

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. A. Mayr

Beeinflussung des Immunsystems
durch Antibiotika

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Evelin Cornelia Pfleger
aus
Weilheim
München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr.Dr. h.c.mult. A. Mayr

Korreferent: Prof. Dr. E. Munz

Tag der Promotion: 24. Juli 1987

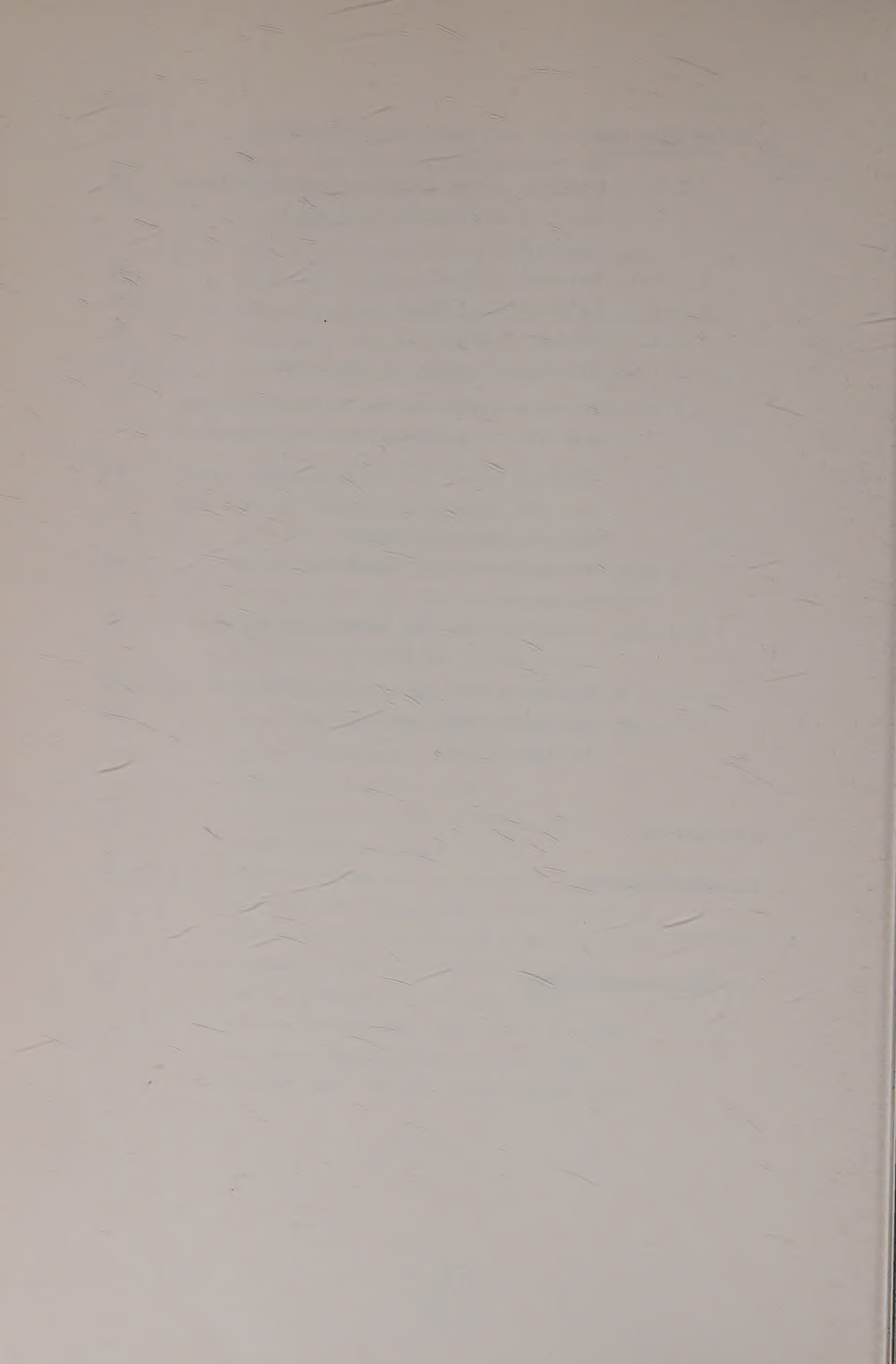
Meinen Eltern
in Dankbarkeit

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. SCHRIFTTUM	2
2.1. <u>Einführung und Begriffsbestimmungen</u>	2
Immunsystem, spezifischer und paraspezifischer Anteil	2
2.2. <u>Supprimierung des Immunsystems</u>	3
2.2.1. Allgemeines	3
2.2.2. Supprimierung der spezifischen Aktivitäten des Immunsystems durch Antibiotika	5
2.2.3. Supprimierung der paraspezifischen Aktivitäten des Immunsystems durch Antibiotika	7
2.3. <u>Stimulierung des Immunsystems</u>	9
2.3.1. Allgemeines	9
2.3.2. Stimulierung der spezifischen Aktivitäten des Immunsystems durch Antibiotika	10
2.3.3. Stimulierung der paraspezifischen Aktivitäten des Immunsystems durch Antibiotika	10
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	11
3.1. <u>Material und Methoden</u>	11
3.1.1. Versuchstiere	11
3.1.2. Antibiotika	11
3.1.3. Zytostatikum	12
3.1.4. Impfstoffe	13

	Seite
3.1.5. Untersuchungen über den Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf den spezifischen Anteil des Immunsystems	14
3.1.5.1. Antikörperbestimmung nach Vakzination mit Tetanustoxoid	14
3.1.5.2. Antikörperbestimmung nach Vakzination mit Salmonella-Antigen	16
3.1.5.3. Antikörperbestimmung nach Vakzination mit Pocken-Lebendimpfstoffen	17
3.1.5.4. Antikörperbestimmung nach Vakzination mit Pferdeinfluenza A/equi 1 und A/equi 2	18
3.1.6. Untersuchungen über den Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf die Vermehrung von Impfviren in Organen der Maus nach Vakzination mit Pocken-Lebendimpfstoffen	20
3.1.7. Untersuchungen über den Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf den paraspezifischen Anteil des Immunsystems der Maus	21
3.1.7.1. Bestimmung von Milzgewicht und Lymphozytenausbeute/Milz	21
3.1.7.2. Untersuchung der mitogenen Stimulierbarkeit der Milzlymphozyten mittels Lymphozytentransformationstest (LTT)	22
3.1.7.3. Nachweis der Interferoninduktion im Plaquereduktionstest (PRT)	24
3.1.7.4. Untersuchung der spontanen Aktivität der natürlichen Killer-(NK) Zellen bzw. deren Stimulierbarkeit	25

	Seite
3.2. <u>Ergebnisse</u>	27
3.2.1. Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf die Antikörperbildung im Impfmodell:	27
3.2.1.1. Tetanus / Maus	27
3.2.1.2. Salmonella / Maus	32
3.2.1.3. Pocken / Maus	32
3.2.1.4. Pferdeinfluenza / Kaninchen	37
3.2.2. Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf die Vermehrung von Impfviren	45
3.2.3. Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf den paraspezifischen Anteil des Immunsystems der Maus	45
3.2.3.1. Milzgewicht und Lymphozytenaus- beute/Milz	45
3.2.3.2. Untersuchung der mitogenen Stimu- lierbarkeit im LTT	51
3.2.3.3. Nachweis der Interferoninduktion	55
3.2.3.4. Aktivität der natürlichen Killer-Zellen	58
4. DISKUSSION	65
5. ZUSAMMENFASSUNG	74
6. SUMMARY	76
7. LITERATURVERZEICHNIS	78



1. EINLEITUNG

Mit der Entdeckung der antibiotischen Eigenschaften des Schimmelpilzes "Penicillium notatum" im Jahre 1929 durch FLEMING und dem therapeutischen Einsatz nach 1940 wurde mit der Isolierung einer Vielzahl weiterer natürlicher Substanzen, die Wachstum und Vermehrung anderer Mikroorganismen zu stören vermögen, die "Ära der Antibiotika" eingeleitet.

Als im Jahre 1950 RICH (80) über das Auftreten der aplastischen Anämie nach vorausgegangener Chloramphenicolbehandlung berichtete, zur selben Zeit MUNOZ (71) eine leukozytäre Phagozytosehemmung nach Verabreichung von Chlortetracyclin beobachtete, wurde erstmals über die Beeinflussung des Immunsystems durch Antibiotika diskutiert (38, 40, 41). Inzwischen sind zahlreiche Untersuchungen über die immunsuppressive Wirkung der Antibiotika durchgeführt worden, die zu höchst unterschiedlichen Ergebnissen führten. So finden sich neben Berichten über supprimierende Einflüsse auch solche über stimulierende Wirkungen, sowie andere über ein neutrales Verhalten von Antibiotika gegenüber dem Immunsystem.

Aufgabe vorliegender Arbeit ist es, den direkten Einfluß von Antibiotika aus vier verschiedenen Wirkstoffgruppen

- Penicilline (bakterizid)
- Aminoglykoside (bakterizid)
- Tetracycline (bakteriostatisch)
- Chloramphenicol (bakteriostatisch)

in therapeutischen Dosen auf die spezifischen und paraspezifischen Aktivitäten des Immunsystems im gesunden Organismus experimentell zu untersuchen.

2. SCHRIFTTUM

2.1. Einführung und Begriffsbestimmungen

Immunsystem, spezifischer und paraspezifischer Anteil

Die erfolgreiche Auseinandersetzung eines Individuums mit krankmachenden Faktoren der Umwelt setzt schnell und zuverlässig funktionierende Abwehrmechanismen voraus. Dabei läßt sich das am höchsten differenzierte und komplex aufgebaute Immunsystem der Säuger grobschematisch in antigenspezifische und antigenunspezifische (paraspezifische) Anteile aufgliedern.

Das Zustandekommen von Immunvorgängen ist im wesentlichen von vier verschiedenen Zellsystemen abhängig, die ihren gemeinsamen Ursprung in der Knochenmarkstammzelle haben. Es sind dies Makrophagen, T-Lymphozyten (thymusabhängige Lymphozyten) und Null-Zellen als Träger der zellulären Immunreaktion, sowie B-Lymphozyten (bursaäquivalente Zellen), die für die humorale, durch zirkulierende Antikörper bedingte Immunität verantwortlich sind.

Für den paraspezifischen, das heißt nichterreger- und nichtantigenspezifischen Schutz, der schnell einsetzt, unterschiedlich lange anhält und dem spezifischen Schutz zeitlich vorausgeht, sind humorale Abwehrmechanismen, wie Opsonin-Propertin-System, Komplementsystem, alternate pathway, Freisetzung von Interleukinen und anderen spezifischen Mediatoren ebenso bedeutsam wie zelluläre Mechanismen; dazu gehören die Phagozytosefähigkeit der Mikro- und Makrophagen, Stimulierung nicht antigenspezifischer Lymphozyten, Aktivierung der spontanen zellvermittelten Zytotoxizität (SCMC) der natürlichen Killer-(NK) Zellen, Induktion von körpereigenem Interferon, Steigerung der Lysozymproduktion,

Verstärkung der regulierenden Wirkung von Prostaglandinen. Nach Ablauf der paraspezifischen Aktivitäten des Immunsystems und damit verbundener Stimulierung immunkompetenter Zellen, setzen die erreger- und antigenspezifischen Abwehrmechanismen ein. Durch Vermittlung antigenaktivierter Makrophagen und T-Lymphozyten entstehen aus B-Lymphozyten die verschiedenen Plasmazellen, deren Produkt die entsprechenden Antikörper sind (59, 62, 64, 65, 66).

2.2. Supprimierung des Immunsystems

2.2.1. Allgemeines

Unter Immunsuppression versteht man eine erworbene Minderung der Reaktionsfähigkeit der für die Immunität und Paramunität verantwortlichen Mechanismen, die bis zur vollständigen Unterdrückung einzelner oder aller Immunfunktionen führen kann (81).

Ursache dafür können einerseits natürliche endogene und exogene Noxen sein, andererseits muß bei einer künstlich erworbenen Immunsuppression eine beabsichtigte von einer unbeabsichtigten, die meist als unerwünschte Nebenwirkung verschiedener Medikamente auftritt, unterschieden werden. So werden z.B. zur Behandlung von Tumoren medikamentelle Zytostatika eingesetzt, welche die pathologische wie physiologische Zellteilung beeinflussen und gleichermaßen wie die Strahlentherapie, neben einer Hemmung des Tumorstwachstums, zu einer Immunsuppression führen. Ebenso hat die Langzeitbehandlung mit Cortikosteroiden und Antiphlogistika eine Beeinträchtigung immunologischer Aktivitäten zur Folge (37).

Antibiotika, vor allem studiert beim Penicillin und Streptomycin, können infolge ihrer Wirkung auf die intrazellulären und extrazellulären Enzymsysteme,



Funktionen der Gewebe, der Zellen und Organe stören (70). Auch besteht eine direkte oder indirekte Beeinflussung des weißen Blutbilds (42). Ferner wirken die Antibiotika auf das Gefäßsystem, die Muskulatur, auf das Knochenmark (18), auf das Endokrinum und auf das vegetative Nervensystem (8). Da das letztere (19,94) einen hemmenden und das somatotrope Hypophysenvorderlappenhormon einen stimulierenden Einfluß auf die Leukozyten, auf das lymphatische System (19), speziell auf die Plasmazellen haben, ist hiermit eine Beziehung zu dem System, welches bei der Immunisierung in Aktion tritt, hergestellt (43).

Eine Vielzahl der häufig angewandten Antibiotika wie z.B. Tetracycline, Chloramphenicol, Streptomycin, Erythromycin, Neomycin und Penicillin bewirken in hohen Konzentrationen und bei langer Behandlungsdauer unterschiedlich stark ausgeprägte immunsuppressive Effekte (77, 87, 105). Dabei handelt es sich zum Teil um eine indirekte Wirkung auf die Infektabwehr. So kommt es unter anderem zu einer Veränderung der natürlichen Keimflora von Haut und Schleimhäuten und damit zum Verlust ihrer Funktion als Schutzwall gegenüber pathogenen Keimen. Eine morphologische Veränderung der Mikroorganismen nach Einsatz subinhibitorischer Konzentrationen wurde z.B. für Betalactam-Antibiotika und Fosfomycin beschrieben. Eine damit verbundene Abwandlung der Antigenstruktur hat möglicherweise zur Folge, daß bei einer Auseinandersetzung mit natürlich vorkommenden, unveränderten Erregern der Immunschutz nicht ausreicht (81).

Eine viel größere Rolle spielen die direkten Interaktionen zwischen Antibiotika und Teilen des Immunsystems. Die Vielzahl der Präparate erforderte eine Begrenzung der nachfolgenden Literatur auf Antibiotika der Wirkstoffgruppen, die später im einzelnen auf ihren Einfluß auf das Immunsystem untersucht werden sollen.

2.2.2. Supprimierung der spezifischen Aktivitäten des Immunsystems durch Antibiotika

Nach TERZIAN (95) ist bestimmend für die Störung der Antikörperbildung der Zeitpunkt des Einsetzens der Antibiotikatherapie, die Art des Medikaments, Verabreichung, Dosierung und die Wiederholung der Gabe. Chloramphenicol, Tetracycline und Aminoglykosid-Antibiotika greifen bei gemeinsamem Wirkungsmechanismus, nämlich einer Hemmung der Proteinsynthese des Mikroorganismus, an verschiedenen Stellen in die Proteinsynthese ein. So schreibt SELL (86) eine verminderte Bildung zirkulierender Antikörper einer Störung der Proteinsynthese in den Plasmazellen durch Chloramphenicol zu. Die Anwendung von Tetracyclinen schädigte z.B. spezifisch sensibilisierte Lymphozyten und unspezifische Effektorzellen und führte folglich zur Suppression zellulärer Immunreaktionen.

In vivo-Versuche von WEISBERGER (104) bestätigten die Erfahrung von VOICULESCU (101, 102), der eine signifikante Depression der zellvermittelten Immunantwort auch durch Chloramphenicol erzielte. Ein hemmender Einfluß auf die spezifische humorale Immunantwort konnte von DANIEL (16) nachgewiesen werden. PATOCKA (75, 76) unterdrückte durch eine Tetracyclinbehandlung von Mäusen deutlich deren Immunantwort auf applizierte Schaferythrozyten als Antigen, wobei die IgG-Fraktion in größerem Ausmaß vermindert wurde als die IgM-Fraktion. Wurden Hennen 10 Tage nach oder während einer Chlor-tetracyclinbehandlung gegen atypische Geflügelpest geimpft, dann lag der Antikörpertiter deutlich unter dem der Kontrollen (74). HAHN (38) gelang sogar eine völlige Hemmung der Immunantwort mit Tetracyclin-Konzentrationen, die von anderen Autoren als nicht suppressiv beschrieben wurden. Er führte die verminderte Antikörpersynthese auf eine fehlende Antigen-T-Zell-Interaktion zurück, die durch Chelatbildung von Tetracyclin mit Ca^{++} -Ionen verursacht wird. Die größte

Suppression der Antikörperbildung auf ein bestimmtes Antigen beobachtete SIEFERT (87) nach viertägiger Tetracyclin-Vorbehandlung von Mäusen. Er vermutete einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Supprimierung der Immunantwort und der Zeitspanne zwischen Antibiotikum-Applikation und Antigengabe. Dies konnte von HILLEBRECHT (47) bestätigt werden, der eine Hemmung der Antikörperbildung gegen Tetanus-Toxoid, besonders nach einer Vorbehandlung der Mäuse mit Tetracyclin, feststellte. SLAVCHEVA (90) erzielte mit dem gleichen Antibiotikum (48 Stunden vor der Antigengabe an Ratten verabreicht) ebenfalls eine Hemmung der Antikörperbildung. Eine gleichzeitige Applikation von Antibiotikum und Antigen verminderte diesen Hemmeffekt. Im Gegensatz dazu berichtete YOUNG und YOUNG (107) von einer optimalen Unterdrückung der B-Lymphozyten-differenzierung durch Tetracyclin und Chloramphenicol, wenn das Antibiotikum zwischen dem vierten und siebten Tag nach der Antigengabe gegeben wurde. TU (99) erzielte eine ausgeprägte suppressive Wirkung auf die Antikörperbildung durch hohe Tetracyclingaben, die gleichzeitig zur Immunisierung mit lebenden oder inaktivierten bakteriellen Erregern (*Erysipelothrix rhusiopathiae*) verabreicht wurden. In weiterführenden Untersuchungen wurden Kaninchen mit Oxytetracyclin behandelt und mit lebenden oder hitzeinaktivierten *Brucella abortus* Erregern immunisiert. Dabei war der hemmende Effekt dieses Antibiotikums auf die spezifische humorale Immunantwort abhängig von der Dosis des Antibiotikums, der Dosis der Vakzine und der Dauer der Behandlung. Die Antikörperbildung nach Immunisierung mit inaktivierten Erregern konnte nur durch hohe Tetracyclinkonzentrationen beeinflusst werden (100). AMBROOSE (1) wies in in vitro-Versuchen ebenfalls auf einen direkten Zusammenhang zwischen Dosis des Antibiotikums, in diesem Falle des Chloramphenicols, und dem Ausmaß der Suppression der Antikörperbildung hin.

FORSGREN und SCHMELING (24) sowie SIEGEL (88) beschrieben eine Hemmung der T- und B-Lymphozytenproliferation durch einige Aminoglykosid-Antibiotika, die ebenfalls dosisbezogen war.

Die Penicilline, als Vertreter der Betalactam-Antibiotika wurden wegen ihrer selektiven Wirkungsweise auf die Biosynthese der bakteriellen Mureinzellwand im allgemeinen als neutral in ihrer Wirkung auf Eukaryontenzellen und damit auf Zellen des Immunsystems eingeordnet (29,81). Diese Meinung wurde auch durch in vitro Versuche von BANCK, FORSGREN (3) und DAM (14) gestützt. Dagegen beschrieb ZINZIUS (108) sehr wohl ein Eingreifen der Penicilline in den differenzierten Abwehrapparat des Organismus, nachdem auch ANDERSEN und Mitarbeiter eine Abschwächung der aktiven Immunisierungsvorgänge feststellen konnten. Dies stimmt mit Erkenntnissen von NAVASARDYAN (73) überein, der nach siebentägiger Antibiotikagabe und nachfolgender Immunisierung eine signifikante Hemmung der Antikörperbildung registrierte. ROSZKOWSKI et al. (82) berichtete ebenfalls von stark suppressiven und lang andauernden Auswirkungen auf die spezifische zelluläre und humorale Immunantwort von Mäusen nach siebentägiger Applikation von Mezlocillin und Piperacillin.

2.2.3. Supprimierung der paraspezifischen Aktivitäten des Immunsystems durch Antibiotika

JAKONIUK (49) stellte eine verminderte Phagozytoseaktivität der Granulozyten und der peritonealen Makrophagen von Mäusen fest, die mit Chloramphenicol vorbehandelt waren. Bei DA MERT und SOHNLE (5, 15) führte dieses Antibiotikum in vitro zu einer Verminderung der Lymphozytenproliferation. Benzylpenicillin und Tetracyclin verursachte bei Mäusen eine Abnahme der Phagozytoserate, wobei Tetracyclin einen größeren

Hemmeffekt aufwies als Benzylpenicillin (2). Eine hemmende Wirkung der Tetracycline auf Granulozytenaktivitäten, Phagozytose und lymphozytäre Proteinsynthese wurde von BANCK und FORSGREN (3, 25, 26) beschrieben, die nach GNARPE (35) von Präparat und Dosis abhängig war. FORSGREN und SCHMELING (23), MARTIN (54), MAJESKI (53), GNARPE und BELSHEIM (6, 7, 33) sowie SIEGEL (88) berichteten übereinstimmend von einer deutlichen Hemmung der Chemotaxis humaner Leukozyten unter in vitro Einwirkung therapeutisch wirksamer Tetracyclinkonzentrationen. GNARPE, BELSHEIM (33) und MELBY, MIDTVEDT (68) beobachteten nur bei sehr hohen Dosen eine Hemmung der leukozytären Phagozytose. Aufgrund weiterführender Untersuchungen berichtete GNARPE (34, 35) von unterschiedlichen Wirkungen einer Aminoglykosid-Behandlung auf die Granulozytenaktivität in Zusammenhang mit dem jeweils eingesetzten Präparat dieser Wirkstoffgruppe. In vitro Untersuchungen mit Gentamicin führten, je nach Dosis und in Abhängigkeit vom Geschlecht der Leukozytenspender, zu einer mehr oder weniger verminderten Granulozytenmigration, Phagozytoseaktivität und Lymphozytenproliferation. Eine deutliche Beeinträchtigung der Leukotaxis erzielten GOODHART (36), KHAN (51), SEKLECKI (85) und BURGALETA (11) durch Einsatz unterschiedlich hoher Aminoglykosid-Konzentrationen (20,69). Eine Vorbehandlung von Mäusen mit dem Betalactam-Antibiotikum Mezlocillin führte bei Versuchen von ROSZKOWSKI (82) zu einer erheblich verminderten Aktivität der natürlichen Killer-(NK)Zellen. Neben einer deutlichen Reduktion des Milzgewichts und der Lymphozytenproliferation blieb die Aktivität von Granulozyten und Monozyten unbeeinflusst. Bei in vitro-Tests von CHAPERON und SANDERS (12) führte Cephalosporin zu einer verminderten Stimulierbarkeit der Lymphozyten durch PHA und ConA, wobei nicht nur das Antibiotikum, sondern auch das Mitogen das Ausmaß der Suppression bestimmte.

2.3. Stimulierung des Immunsystems

2.3.1. Allgemeines

Unter einer Stimulierung des Immunsystems versteht man eine erworbene Steigerung der Reaktionsfähigkeit des spezifischen und paraspezifischen Anteils des Abwehrsystems eines Individuums auf natürliche endogene und exogene, oder künstliche, d.h. gezielt verabreichte Reize.

Seit vorchristlicher Zeit bis Ende des 19. Jahrhunderts haben sich die Methoden zur Steigerung der unspezifischen Abwehrkräfte des Organismus nur wenig verändert. So sind spezielle Organ-, Pflanzen-, Bakterienextrakte und Toxine (aus dieser Zeit überliefert) noch heute in Gebrauch. Selbst die paraspezifische Wirkung der Schutzimpfung ist seit langem bekannt und bereits JENNER machte 1790 auf Wechselwirkungen zwischen Herpes und Pockenschutzimpfung beim Menschen aufmerksam. Auf Grund dieser Erkenntnisse wurden sog. virale und bakterielle Paramunitätsinducer entwickelt, die entweder alle Funktionen der Paramunität stimulieren (multipotente Inducer), oder gezielt nur einzelne, für die nichterregerspezifische Abwehr notwendige Faktoren bzw. Funktionen aktivieren (unipotente Inducer), ohne eine antigen-, oder erregerspezifische Wirkung zu induzieren. Eine aktive Schutzimpfung stellt dagegen den Versuch dar, die natürliche Immunisierung, wie sie durch die ständige aktive Auseinandersetzung des Organismus mit seiner keimhaltigen Umwelt abläuft, nachzuahmen. Sie stimuliert besonders die spezifischen Aktivitäten des Immunsystems und regt die Bildung von Immunzellen, Antikörpern und Memoryzellen gegenüber einem bestimmten Erreger oder Antigen an (59, 64, 65).

2.3.2. Stimulierung der spezifischen Aktivitäten des Immunsystems durch Antibiotika

ROLLE und MAYR (81) wiesen auf einen leicht stimulierenden Effekt, vor allem auf die Bildung humoraler Antikörper nach Einsatz von Oxytetracyclin in therapeutischen Dosen hin. Dies konnte von SLAVCHEVA (90) bestätigt werden, der bei Ratten eine gesteigerte Antikörperbildung ermitteln konnte, wenn die Tetracyclingabe 24 Stunden nach dem Antigen erfolgte. Auch GILLISSEN (31, 32) gelang eine Steigerung der IgM-Antwort auf Schaferythrozyten als antigenes Stimulans, nach einmaliger Applikation des Cephalosporins, eines Betalactam-Antibiotikums.

2.3.3. Stimulierung der paraspezifischen Aktivitäten des Immunsystems durch Antibiotika

Die Anwendung eines anderen Vertreters der Betalactam-Antibiotika, des Imipenem, führte in niedriger Konzentration bei in vitro-Tests von GNARPE und BELSHEIM (34, 35) zu einer Steigerung der Granulozytenfunktion. Eine Chloramphenicolbehandlung bewirkte bei Untersuchungen von GILLISSEN (30) ebenfalls einen stimulierenden Effekt auf die Chemotaxis der Neutrophilen beim Menschen. Nach Applikation von Acetylspiramycin, einem Vertreter der Wirkstoffgruppe der Makrolid-Antibiotika, konnte LI (52) eine vermehrte Lymphozytenproliferation bei Mäusen nachweisen. Oral verabreichtes Acetylspiramycin führte im Gegensatz zu in vitro-Versuchen, zu einer signifikanten Steigerung der Milzlymphozytenproliferation nach Induktion mit Phytohaemagglutinin. Außerdem konnte eine vermehrte Freisetzung der Lymphokine kurz nach der oralen Antibiotikaapplikation festgestellt werden.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Versuchstiere

Für die Immunisierungsversuche mit Tetanus-, Salmonella- und Pockenvakzine, die Untersuchung auf Virusvermehrung in Organen und die Untersuchung der paraspezifischen Parameter wurden weibliche NMRI-Mäuse mit einem durchschnittlichen Gewicht von 25 g bei Versuchsbeginn verwendet. Die Tiere wurden in 10er Gruppen in Makrolonkäfigen gehalten und erhielten Pellets und Leitungswasser ad libitum.

Die Immunisierungsversuche mit Pferde-Influenza wurden mit männlichen und weiblichen Kaninchen, Chinchilla-Bastarde, mit einem durchschnittlichen Gewicht von 2 kg bei Versuchsbeginn durchgeführt. Die Tiere wurden in Einzelkäfigen gehalten und erhielten Pellets, Heu und Leitungswasser ad libitum.

3.1.2. Antibiotika

<u>Präparate:</u>	Baypen ^R	Bayer: Mezlocillin-Natrium-monohydrat
	Paraxin ^R	pro injectione, Boehringer Mannheim: Chloramphenicol als Monosuccinat-Na
	Terramycin ^R	Depot, Pfizer: Oxytetracyclin und 2-chlor-6-methyl-2- (1-pyrrolidinyl) acetanilid-HCl
	Refobacin ^R	Merck: Gentamicinsulfat

Dosierung und Applikation:

Baypen ^R	2 x täglich subcutan 2,5 mg/Maus/0,1 ml 200 mg/Kaninchen/1 ml (entspricht einer Tagesdosis von 200 mg/kg KG)
Paraxin ^R	einmal täglich subcutan 1,0 mg/Maus/0,1 ml 80,0 mg/Kaninchen/1,0 ml (entspricht einer Tagesdosis von 40 mg/kg KG)
Terramycin ^R	einmal täglich subcutan 0,5 mg/Maus/0,1 ml 40,0 mg/Kaninchen/1,0 ml (entspricht einer Tagesdosis von 20 mg/kg KG)
Refobacin ^R	2 x täglich subcutan 0,0625 mg/Maus/0,1 ml 5,0 mg/Kaninchen/1,0 ml (entspricht einer Tagesdosis von 5 mg/kg KG)

Die Tiere der Kontrollgruppen erhielten als Placebo-
substanz 0,1 ml/Maus bzw. 1,0 ml/Kaninchen NaCl-
Phosphat-Puffer subcutan.

3.1.3. Zytostatikum (als Vergleichssubstanz)

Präparat: Endoxan^R Degussa Ph.: Cyclophosphamid 1
H₂O Natriumchlorid

Dosierung und Applikation: einmal täglich subcutan
1 mg/Maus/0,1 ml
80 mg/Kaninchen/1,0 ml
(entspricht einer Tagesdosis
von 40 mg/kg KG)

3.1.4. Impfstoffe

Tetanustoxoid (Behringwerke AG, Marburg)

Formalin-inaktiviertes Clostridium tetani Toxin

einmalige subcutane Applikation von

2 bzw. 4 Lf ¹⁾ / 0,1 ml / Maus

Salmonella-Vakzine

hitzeinaktivierte Salmonella typhimurium Keime

10⁸/ml Charge vom 6.86, hergestellt im Labor Dr.Baljer

einmalige intraperitoneale Applikation von

0,1 ml / Maus

Pocken-Lebendimpfstoffe

Vaccinia-Virus, Stamm Elstree

vermehrt auf FHE ²⁾ mit einer KID₅₀ ³⁾ von 10^{7,25}/ml

Vaccinia-Virus, Stamm MVA (Mod.Vaccinia-Virus Ankara)

ein von Mayr über kontinuierliche Gewebekulturpassagen
attenuierter Impfstamm (55, 56, 57).

Charge I/85 auf FHE vermehrt mit einer KID₅₀ von
10^{7,25}/ml

einmalige intraperitoneale Applikation von 0,1 ml / Maus

Pferdeinfluenza

Prevacun F ^R (Behringwerke AG, Marburg)

enthält zu gleichen Teilen inaktiviertes Influenza-
Virus der Stämme

A/equi 1 / Prag 1/56

A/equi 2 / Miami 1/63

A/equi 2 / Fontainebleau 1/79

einmalige subcutane Applikation von 1 ml / Kaninchen

1) Lf = Limes flocculationis (Flockungseinheit)

2) FHE = Hühnerembryofibroblastenkultur

3) KID = kulturinfektiöse Dosis

3.1.5. Untersuchungen über den Einfluß einer Antibiotika- behandlung auf den spezifischen Anteil des Immunsystems

3.1.5.1. Antikörperbestimmung nach Vakzination mit Tetanustoxoid

Behandlung

In einer Versuchsserie wurden die Antibiotikabehandlungen jeweils 7 Tage vor der Impfung (-7.bis-1.Tag), in einer 2. Versuchsserie jeweils 7 Tage nach der Impfung (+1.bis+7.Tag) durchgeführt. Die Impfung erfolgte am Tag 0. Dosierung und Applikation entsprachen den unter 3.1.2. gemachten Angaben.

Bei allen Versuchsansätzen wurden gleich große Kontrollgruppen unter den gleichen Bedingungen gehalten, die entsprechend den Versuchen mit Antibiotikapräparaten mit Placebo behandelt wurden.

In diesem Impfmodell wurde außerdem einer Vergleichsgruppe das Zytostatikum Endoxan ^R 7 Tage vor bzw. 7 Tage nach der Impfung appliziert.

Serumgewinnung

In allen Versuchsmodellen sind Nullsera vor Versuchsbeginn entnommen worden. Testsera wurden in wöchentlichen Abständen von der 2. bis zur 6. Woche p.vacc. (in den Versuchen mit Endoxan ^R bis zur 4. Woche p.vacc.) gewonnen. In den Mäuse-Modellen wurde die Blutentnahme zur Serumgewinnung durch Dekapitation in Äthernarkose von jeweils 5 Tieren/Gruppe vorgenommen.

Antitoxinbestimmung gegen Tetanus mittels ELISA
(Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)

Der ELISA zum Nachweis der Tetanus-Antitoxine wurde im Mikroverfahren durchgeführt. Als Antigen zur Beschichtung der Mikrotiterplatten diente dasselbe Toxoid wie zur Immunisierung. Die Antigengebrauchsverdünnung in Karbonat/Bikarbonatpuffer (pH 9,6) lag bei 1:10 000 = 0,1 Lf/ml Tetanus-Toxoid; 0,1 ml der Antigenverdünnung wurde in die Vertiefung der Flachbodenplatten (M 129 A, Flow Laboratories, Bonn) pipettiert. Die Platten wurden anschließend 3 Stunden bei 37° C inkubiert, mit Folie verschlossen und bei 4° C im Kühlschrank aufbewahrt. Nach dreimaligem Waschen der Platten mit NaCl-Phosphat-Puffer plus Tween (8 g NaCl + 0,2 g KH₂PO₄ + 2,9 g Na₂HPO₄ x 12 H₂O + 0,2 g KCl pro 1 l Aqua dest. + 0,05 % Tween 20) wurden die Vertiefungen mit je 0,1 ml der in 2er-Stufen mit NaCl-Phosphat plus Tween verdünnten Sera beschickt. Zur Kontrolle liefen jeweils ein positives und ein negatives Serum mit. Nach einstündiger Bebrütung bei 37° C wurden die Platten viermal gewaschen und mit je 0,1 ml der Gebrauchsverdünnung (in NaCl-Phosphat ohne Tween, mit 5 % foetalem Kälberserum) des tierspezifischen Konjugates beschickt. Es handelte sich dabei um ein Peroxydase-anti-mouse-Konjugat der Fa. Nordic (Gebrauchsverdünnung 1:400). Nach erneuter einstündiger Inkubation bei 37° C und viermaligem Waschen erfolgte die Zugabe von je 0,1 ml Substrat (0,5 g P-Phenyl-diamin der Fa. Sigma, München, + 4,67 g Zitronensäure + 9,15 g Na₂HPO₄ ad 1 l Aqua dest., kurz vor Gebrauch Zugabe von 0,005 % H₂O₂). Die Platten wurden etwa 10 Minuten im Mikro-Shaker (Dynatech) geschüttelt und bis zur Ablesung bei 510 nm im Multiscan-Photometer (Flow Laboratories, Bonn) eine Stunde bei Zimmertemperatur inkubiert (21, 93, 103).

3.1.5.2. Antikörperbestimmung nach Vakzination mit Salmonella-Antigen

Behandlung

Antibiotikabehandlung, Impfung und Serumgewinnung erfolgte unter den in 3.1.5.1. genannten Bedingungen.

Antikörpernachweis gegen O-Antigen von S. typhimurium mittels ELISA

Antigenherstellung: Als Ausgangsmaterial für die Herstellung des S. typhimurium O-Antigens dienten Abschwemmungen von 18-stündigen Agarkulturen. Die durch Zentrifugation eingeengte Bakteriensuspension hatte einen Titer von 7×10^{10} Keimen pro ml. Die konzentrierte Bakteriensuspension wurde auf 2°C heruntergekühlt und mit dem doppelten Volumen einer 75-prozentigen, bei 5°C gehaltenen Phenol-Wassermischung versetzt. Nach kräftigem Schütteln wurde das Gemisch 20 Minuten bei 5°C inkubiert und anschließend bei 35 000 UpM 30 Minuten zentrifugiert. Durch die Zentrifugation trennte sich dann das Gemisch in eine wässrige Phase, die das O-Antigen enthielt und eine Phenolphase. Die wässrige Phase wurde durch 2-tägiges Dialysieren gegen fließendes Leitungswasser und 1-tägiges Dialysieren gegen Aqua dest. (4°C) gereinigt. Vor der Verwendung mußte der pH-Wert des Dialysats mit KOH auf 7,2 eingestellt werden.

Durchführung: Als Antigen zur Plattenbeschichtung diente das nach der Phenol-Wasser-Methode hergestellte O-Antigen. Die Antigengebrauchsverdünnung in Coating Puffer (Karbonat/Bikarbonatpuffer, pH 9,6) lag bei 1:100. Je 0,1 ml der Antigengebrauchsverdünnung wurde in die Vertiefungen der Flachbodenplatten (M 199 A, Flow Laboratories) pipettiert. Die Platten wurden anschließend mit Tesafilm (Scotch TM Pressure Sensitive Tape) verschlossen, 4 Stunden bei 37°C inkubiert und

bis zur weiteren Verwendung bei 4° C im Kühlschrank aufbewahrt.

Nach dreimaligem Waschen der Platten mit NaCl-Phosphat-Puffer plus Tween konnten die Vertiefungen der Platte mit je 0,1 ml der in 2er Stufen mit NaCl-Phosphat-Puffer + Tween verdünnten Serumproben beschickt werden. Zur Kontrolle liefen jeweils ein positives und ein negatives Immunserum mit. Nach einstündiger Bebrütung bei 37° C wurden die Platten viermal gewaschen und je 0,1 ml der Gebrauchsverdünnung ¹⁾ des tierartspezifischen Konjugates (Anti-Bovine Peroxidase-Immunoconjugate der Fa. Nordic, RAB/IgG (H+L) dazugegeben. Nach erneuter 1stündiger Bebrütung bei 37° C und anschließendem viermaligem Waschen erfolgte die Zugabe von je 0,1 ml Substrat (0,5 g Orthophenyldiamine der Fa. Sigma + 4,67 g Zitronensäure + 9,15 g Na₂HPO₄ ad 1 l Aqua dest., kurz vor Gebrauch Zugabe von 0,005 % H₂O₂). Die Platten wurden dann etwa 10 Minuten lang auf einem Mikroshaker (Dynatech) geschüttelt und bis zur Ablesung bei 510 nm im Photometer (Titertek Multiscan, Flow Laboratories) eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur stehengelassen.

Als positiv wurde die Verdünnungsstufe angesehen, bei der der Extinktionswert mindestens 50 % über dem des negativen Kontrollserums lag (84).

3.1.5.3. Antikörperbestimmung nach Vakzination mit Pocken-Lebendimpfstoffen

Die Behandlung, Impfung und Serumgewinnung der Mäuse wurde unter den in 3.1.5.1. genannten Bedingungen durchgeführt.

1) 1:1000 in NaCl-Phosphat-Puffer + 5 %
foetales Kälberserum

Mikroneutralisationstest zum Nachweis neutralisierender Antikörper gegen die Vaccinia-Stämme Elstree und MVA

Beim Mikroverfahren wurden die Sera in 2er Stufen mit Hilfe von genormten Mikrodilutern (Fa. Flow) in Zellkulturmedium, bestehend aus Eagles Minimal Essential Medium mit 10 % foetalem Kälberserum, 10 % Laktalbumin, 1 % Natriumbicarbonat und Antibiotika, verdünnt. Vier Vertiefungen der Mikrotiterplatten (Fa. Becton Dickinson & Co., Falcon^R 3040) wurden mit jeder Serumverdünnung beschickt und anschließend 0,025 ml 5%iges Meerschweinchenkomplement und 0,025 ml Vaccinia-Virus "Bern" (100 KID₅₀) zugefügt. Nach einer Inkubationszeit von zwei Stunden bei 37⁰ C erfolgte die Einsaat von primären Hühnerembryofibroblastenzellen (FHE), und zwar pro Loch 0,025 ml einer Zellsuspension mit 800 000 Zellen/ml. Die Platten wurden mit einer Folie abgedeckt und unter CO₂-Spannung bebrütet. Die mikroskopische Endablesung anhand des cytopathischen Effektes erfolgte am 6. Tag post infectionem (45). Der Antikörpertiter wurde nach der Methode von Spearman-Kärber (50, 91) berechnet.

3.1.5.4. Antikörperbestimmung nach Vakzination mit Pferdeinfluenza A/equi 1 und A/equi 2

Behandlung

Die Antibiotikabehandlung und Impfung der Kaninchen erfolgte unter den in 3.1.5.1. genannten Bedingungen.

Serumgewinnung

Vor Versuchsbeginn wurden Nullsera der Einzeltiere entnommen. Testsera wurden in wöchentlichen Abständen von der 2. bis zur 6. Woche p.vacc. (in den Versuchen mit Endoxan^R bis zur 5. Woche p.vacc.) durch Blutentnahme aus der Ohrvene gewonnen.

Antikörperbestimmung gegen Pferde-Influenza im
Haemagglutinationshemmungstest HAH, Mikrotest

Der Test wurde im Mikroverfahren durchgeführt. Als Testantigen dienten Influenza A/equi 1, Stamm Prag 1/56, A/equi 2, Stamm Miami 1/63 und Stamm Fontainebleau 1/79, die mit Tween-Äther vorbehandelt wurden.

Zur Entfernung unspezifischer Inhibitoren der Influenza-virus-bedingten Haemagglutination mußten die zu untersuchenden Seren mit RDE (receptor destroying enzyme) vorbehandelt werden. Dazu wurde 0,1 ml des unverdünnten Serums und 0,4 ml RDE (100 Einheiten/ml) gemischt und 18 Stunden bei 37° C inkubiert. Nach Zusatz von 0,3 ml Natriumcitrat wurde mit 0,2 ml PBS (NaCl-Phosphat-Puffer) + 0,5 %igem Natriumacid das Serumgemisch auf eine Anfangsverdünnung von 1:10 eingestellt und 30 Minuten bei 56° C erhitzt.

Zur Durchführung des HAH-Tests in Mikrotiterplatten wurden je 0,025 ml der 1:10 vorverdünnten Sera mit 0,025 ml NaCl-Phosphat-Puffer (pH 7,4) in 2er Potenzen verdünnt. Entsprechende Serum- und Antigen-Kontrollen liefen parallel. Zu jeder Verdünnungsstufe wurde das gleiche Volumen (0,025 ml) des jeweiligen vorbehandelten Antigens (4 HAE = Haemagglutinierende Einheiten) hinzugefügt, geschüttelt und das Gemisch 30 Minuten bei Zimmertemperatur stehengelassen. Anschließend wurden zu jedem Serum-Virus-Gemisch 0,05 ml 0,5 %ige Hühnererythrozyten pipettiert und kurz geschüttelt. Nach 45 Minuten erfolgte die Ablesung.

3.1.6. Untersuchungen über den Einfluß einer Antibiotika-
behandlung auf die Vermehrung von Impfviren in
Organen der Maus nach Vakzination mit Pocken-
Lebend-Impfstoffen

Behandlung

Die Versuchsgruppen (je 30 Mäuse) wurden jeweils 7 Tage mit Antibiotika vorbehandelt (Dosierung und Applikation siehe unter 3.1.2.).

Impfungen

Die Vakzination aller mit Antibiotika behandelten Testgruppen, sowie der unbehandelten Kontrolltiere wurde 1 Tag nach Abschluß der 7tägigen Antibiotika-behandlung durchgeführt.

Die Versuchsgruppen wurden hierfür geteilt. Jeweils 15 Tiere einer Testgruppe, sowie 15 unbehandelte Kontrolltiere erhielten $10^{6,25}$ FHE-KID₅₀/0,1 ml des Vacciniavirus, Stamm Elstree. Der andere Teil der betreffenden Versuchsgruppe (15 Tiere) sowie 15 unbehandelte Mäuse wurden mit $10^{6,25}$ KID₅₀/0,1 ml Vacciniavirus, Stamm MVA i.p. vakziniert.

Eine weitere Gruppe unbehandelter Tiere wurde als positive Kontrolle mit $10^{7,7}$ FHE-KID₅₀ (= 10 LD₅₀) des neurovirulenten Vacciniavirus-Stammes M₁ infiziert.

Entnahme von Organen

Am 2., 3., 4., 5. und 7. Tag nach der Impfung wurden von jeweils 3 Tieren jeder Gruppe nach Tötung in Äthernarkose unter sterilen Bedingungen Milz, Leber, Niere, Lunge und Blut entnommen. In der positiven Kontrollgruppe konnte wegen des akuten Verlaufes der Infektion mit dem neurovirulenten Vacciniavirus Stamm M₁ Organmaterial nur bis zum 4. Tag p.i. entnommen werden.

Untersuchung des Organmaterials

Blut, sowie die Organverreibungen von Milz, Leber, Niere und Lunge (in Minimal Essential Medium, MEM) jedes einzelnen Tieres wurden auf primären Hühner-embryofibroblasten (FHE)-Kulturen ausstrichiert und die Zellkulturen über einen Zeitraum von 9 Tagen täglich auf einen cytopathischen Effekt (cpe) als Ausdruck einer Virusvermehrung kontrolliert. Durch eine weitere Kulturpassage wurde das Ergebnis überprüft (58).

3.1.7. Untersuchungen über den Einfluß einer Antibiotika- behandlung auf den paraspezifischen Anteil des Immunsystems der Maus

3.1.7.1. Bestimmung von Milzgewicht und Lymphozytenausbeute/ Milz

Behandlung

Je 15 Tiere pro Versuchsgruppe wurden 7 Tage lang mit Antibiotika in der unter 3.1.2. angegebenen Dosierung und Applikationsart vorbehandelt.

Zeitpunkt der Untersuchungen

Jeweils am 1., 5. und 11. Tag nach der letzten Antibiotikaapplikation wurden von den vorbehandelten Tieren, sowie einer Placebo-behandelten Kontrollgruppe je 5 Tiere gewogen, in Äthernarkose getötet, die Milzen steril entnommen und ihr Gewicht bestimmt.

Isolierung der Lymphozyten über das Dichtegradienten- verfahren

Nach sorgfältiger Zerkleinerung der Milzen/Versuchsgruppe bzw. Kontrollgruppe in Kulturmedium (RPMI 1640) wurde die Zellsuspension durch Gaze steril filtriert

und anschließend vorsichtig zu gleichen Teilen über Ficoll-Hypaque (Seromed) geschichtet. Es folgte eine Zentrifugation über 45 Minuten bei 1200 g. Die Schicht mononukleärer Zellen wurde vorsichtig abpipettiert, kurz (5 Minuten) bei 800 g zentrifugiert und das Zell-pellet in Kulturmedium mit 5 % foetalem Kälberserum (FKS, Boehringer) resuspendiert. Durch Vitalfärbung der Zellen mit Trypanblau und anschließender Auszählung wurde die Lymphozytenausbeute festgestellt.

3.1.7.2. Untersuchung der mitogenen Stimulierbarkeit der Milzlymphozyten mittels Lymphozytentransformations-test (LTT)

Lymphozytentransformationstest

Nach Gewinnung der Milzlymphozyten, wie unter 3.1.7.1. beschrieben, wurde ihre mitogene Stimulierbarkeit durch PHA ¹⁾ (Phytohaemagglutinin 5 µg/ml), ConA ²⁾ (Concavalin 10 µg/ml) sowie LPS ³⁾ (Lipopolysaccharid 10 µg/ml) in vitro untersucht.

Dazu wurden die isolierten Lymphozyten auf eine Konzentration von 5×10^6 Zellen/ml Medium (RPMI 1640 mit L-Glutamin, ohne NaHCO_3 , Biochrom KG zuzgl. HEPES, Fa. Serva, 2,5 mMol/l Medium und Antibiotika) unter Zugabe von 20 % inaktiviertem FKS eingestellt und mit 0,1 ml/Vertiefung in Mikroplatten eingesät. Die Zugabe der Mitogene erfolgte in gleichem Volumen, die Verdünnung der Substanzen mit gleichem Medium, ohne FKS-Zusatz. Nach 48stündiger Inkubation bei 37° C und 5 % CO_2 wurde mit 0,05 µCi (= 0,025 ml) ³H-Thymidin/Vertiefung markiert und weitere 24 Stunden unter gleichen Bedingungen inkubiert.

- 1) Wellcome Research Laboratories, Beckenham, England
- 2) Pharmacia, Uppsala, Schweden
- 3) Difo Laboratories, Detroit, USA

Anschließend wurden die Lymphozyten mittels Cell-Harvester (Dynatech) gewaschen und auf Filterpapiere überführt, die Filter bei 80° C getrocknet, mit einem Aether-Alkohol-Gemisch (gleiche Teile) fixiert und abermals getrocknet. Die einzelnen Filterproben wurden unter Zusatz von je 5 ml Szintillationsflüssigkeit (Unisolve I, Fa. Zinsser) in Zählfläschchen gegeben und die Aktivität des in die Zellen eingebauten ³H-Thymidins in Form von counts per minute im Liquid-Szintillationszähler (Isocap 300, Searle), gemessen (27).

Aus den festgestellten Einzelwerten (counts/min) wurden Mittelwert, Standardabweichung und -fehler, Variationskoeffizient und Stimulationsindex nach folgenden Formeln berechnet:

$$\text{Mittelwert (counts per minute) cpm } \bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

$$\text{Standardabweichung } s = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$\text{Standardfehler } se = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

$$\text{Stimulationsindex } si = \frac{\bar{x} \text{ Proben (mit Mitogen)}}{\bar{x} \text{ Kontrollen (ohne Mitogen)}}$$

n = Anzahl der jeweils gleichen Probanden = 6.

Als signifikante Abweichung von den unbehandelten Kontrollen wurden nur Ergebnisse mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,5 \%$ gewertet.

Die Signifikanz wurde nach dem Wilcoxon-Test (106) bestimmt.

3.1.7.3. Nachweis der Interferoninduktion im Plaque-reduktionstest (PRT)

Zeitpunkt der Untersuchungen

Am 1., 5. und 11. Tag nach der letzten Antibiotika-applikation sind jeweils 10 Tiere der Versuchsgruppen, sowie 10 Tiere der Kontrollgruppe mit je $10^{7,8}$ FHE-KID₅₀ Newcastle Disease (ND)-Virus / 0,5 ml intraperitoneal infiziert worden. Die Infektion wurde nach 16 Stunden wiederholt. 8 und 24 Stunden nach der 2ten NDV-Applikation wurden jeweils 5 Tiere jeder Gruppe in Äthernarkose entblutet und das Serum im PRT auf seine Hemmwirkung gegenüber der Plaque-Bildung durch Stomatitis vesicularis Virus (Stamm Indiana) zum Nachweis der Interferonbildung untersucht.

Plaquereduktionstest (PRT)

Die Testsera (jeweils von 5 Tieren gepoolt), sowie negative und positive Kontrollsera wurden in 2er Potenzen verdünnt und in einem Volumen von je 0,1 ml auf Zellkulturplatten mit dicht ausgewachsenen LTK-Zellen ¹⁾ gebracht. Nach 4stündiger Inkubation bei 37° C wurden die Serumverdünnungen abgesaugt, die Kulturen gewaschen und anschließend mit je 0,1 ml einer Stomatitis Vesicularis Virus-Suspension beimpft, die auf ca. 30 Plaque-bildende Einheiten eingestellt wurde. Nach 1stündiger Adsorption des Virus bei 37° C und Absaugen des Überstandes wurden die Kulturen mit Agar überschichtet, weitere 40 Stunden bei 37° C inkubiert und mit je 0,5 ml Neutralrot (0,01 %ig in PBS) gefärbt. Nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur konnten die Plaques ausgezählt und deren Anzahl (Mittelwert aus 4 gleichen Proben) bei der jeweiligen

1) permanente Mäusezelllinie Strain L fibroblasten-ähnlich, Herkunft: Subcutis

Serumverdünnung mit derjenigen von nur mit Virus inkubierten Kontrollen verglichen werden. Als Interferontiter galt die höchste Serumverdünnung mit der noch eine mindestens 50 %ige Hemmung der Plaquebildung erreicht wurde.

3.1.7.4. Untersuchung der spontanen Aktivität der natürlichen Killer- (NK) Zellen bzw. deren Stimulierbarkeit

Zeitpunkt der Untersuchung

Die spontane zellvermittelte Zytotoxizität der NK-Zellen wurde jeweils am 1., 5. und 11. Tag nach der letzten Antibiotikagabe untersucht. Von jeder Versuchsgruppe sowie den Placebo-behandelten Kontrollen wurden die Milzen von jeweils 4 Tieren ohne weitere Behandlung entnommen.

Zur Untersuchung der Stimulierbarkeit der NK-Zell-Aktivität zu den jeweiligen Zeitpunkten erhielten weitere 4 Tiere jeder Gruppe $10^{7,8}$ FHE-KID₅₀ ND-Virus i.p. appliziert. Die Entnahme der Milzen erfolgte 24 Stunden später. Die Milzzellen wurden wie unter 3.1.7.1. beschrieben gewonnen und als Effektorzellen eingesetzt.

NK-Test (Chromium 51-Freisetzungstest)

Von der auf 5×10^6 /ml eingestellten Effektorzellzahl ausgehend, sind serienmäßig 2er Verdünnungen in Kulturmedium (RPMI) angelegt und auf jeweils 3 Vertiefungen von Mikrotiterplatten pipettiert worden (0,1 ml/Vertiefung).

Zielzellen (Targetzellen): Parallel zur Isolation der Effektorzellen erfolgte die radioaktive Markierung der Zielzellen. Es handelte sich dabei um ein Monocle-virusinfiziertes T-Zell Lymphom-YAK-1, das als Suspensionszellkultur ständig im Labor

gehalten wird. 2×10^6 YAC-1 Zielzellen wurden mit 100 μCi Natriumchromat Cr^{51} eine Stunde bei 37°C im CO_2 -Inkubator inkubiert. Nach Überprüfung der Zellmarkierung im Gamma-Counter (Searle Analytic Co.) wurden die Zellen 1:40 mit Kulturmedium verdünnt, so daß eine Zellzahl von 5×10^4 lebenden Zellen pro ml vorlag.

Durchführung: Zu den in den Mikrotiterplatten angelegten Effektorzellverdünnungen wurden je 0,1 ml der Zielzellsuspension gegeben, so daß ein Endvolumen von 0,2 ml pro Plattenvertiefung vorlag. Nach 24 Stunden Inkubation der Effektor-Zielzell-Gemische in den Verhältnissen 50:1, 25:1 und 12,5:1 im CO_2 -Inkubator bei 37°C wurden die Mikrotiterplatten kurz (5 Min.) bei 800 g zentrifugiert und von jeder Vertiefung 0,1 ml abpipettiert, in Eppendorf-Reaktionsgefäße überführt und im Gamma-Counter die Aktivität gemessen.

Die maximal mögliche Cr^{51} -Freisetzung wurde durch Behandlung von 0,1 ml Zielzellen mit 0,1 ml Triton^R (5 % in Aqua dest.) erreicht. Die spontane Freisetzung von Cr^{51} durch die Zielzellen wurde durch Inkubation von 5×10^4 Zielzellen in 0,2 ml Kulturmedium ermittelt. Die Zytotoxizität errechnete sich in Prozent als Mittelwert von Dreieransätzen $\pm$ der Standardabweichung nach folgender Formel (10, 98).

$$\% \text{ spezifische Lysis} = \frac{\text{Testcounts} - \text{Spontancounts}}{\text{Maximalcounts} - \text{Spontancounts}} \times 100$$

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf die Antikörperbildung im Impfmodell:

3.2.1.1. Tetanus / Maus

2 Wochen nach der Vakzination mit 2 Lf Tetanustoxoid waren bei den vor der Impfung mit Paraxin bzw. Baypen behandelten Tieren bereits Antikörper von 1:8 bzw. 1:16 zu ermitteln, während sich die Seren der nach der Impfung mit Antibiotika behandelten Tiere ebenso wie die der nicht behandelten Impfkontrollen noch als negativ erwiesen. 3 Wochen p.vacc. reagierten die Seren aller Gruppen positiv, allerdings lagen die Titer der nach der Impfung behandelten Tiere mit 1:8 deutlich unter denen der Impfkontrollen (1:32), sowie der vor der Vakzination mit Paraxin (1:32) bzw. Baypen (1:64) behandelten Gruppen. In allen Gruppen konnte bis zu 6 Wochen p.vacc. eine Persistenz der überwiegend nach 4 Wochen erreichten Titermaxima festgestellt werden (siehe Tabelle 1a).

Bei Vakzination mit 4 Lf Tetanustoxoid waren 2 Wochen p.vacc. bei allen untersuchten Gruppen Antikörper nachweisbar und erreichten bis 4 Wochen p.vacc. vergleichbare Titer von 1:32 bzw. 1:64. Eine verstärkt einsetzende AK-Bildung mit 1:16 gegenüber einem Titer von 1:4 der Kontrollen zeichnete sich in den mit Baypen behandelten Gruppen ab (siehe Tabelle 1a).

Nach der Vakzination mit 2 Lf Tetanustoxoid und einer Antibiotikabehandlung vor der Impfung erreichten die Tiere der mit Terramycin behandelten Gruppe mit 1:32 einen deutlich höheren Antikörper (AK)-Titer als die unbehandelte Kontrollgruppe mit einem Titermaximum von 1:8. In beiden Gruppen waren 2 Wochen p.vacc. bereits Antikörper nachweisbar. In der mit Refobacin behandelten

TABELLE 1a

Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf die Bildung haemagglutinationshemmender Antikörper in der Maus nach der Vakzination mit Tetanus-Toxoid

AB-Behandlung		Vakzination ³⁾		AK-Titer p.vacc.					
Präparat	Zeitraum	Dosis	Zeitpunkt	1 WO	2 WO	3 WO	4 WO	5 WO	6 WO
Kontroll- gruppe		2 Lf	Tag 0	neg.	neg.	1:32	1:64	1:32	1:64
Baypen ^R 1)	-7.bis-1.Tag	"	"	neg.	1:16	1:64	1:64	1:32	1:64
Paraxin ^R 2)	-7.bis-1.Tag	"	"	neg.	1: 8	1:32	1:64	1:64	1:64
Baypen ^R	+1.bis+7.Tag	"	"	neg.	neg.	1: 8	1:16	1:32	1:32
Paraxin ^R	+1.bis+7.Tag	"	"	neg.	neg.	1: 8	1:32	1:32	1:32
Kontroll- gruppe		4 Lf	"	neg.	1: 4	1:16	1:32	n.u. ⁴⁾	n.u.
Baypen ^R	-7.bis-1.Tag	"	"	neg.	1:16	1:64	1:64	n.u.	n.u.
Paraxin ^R	-7.bis-1.Tag	"	"	neg.	1: 8	1:32	1:32	n.u.	n.u.
Baypen ^R	+1.bis+7.Tag	"	"	neg.	1:16	1:32	1:64	n.u.	n.u.
Paraxin ^R	+1.bis+7.Tag	"	"	neg.	1: 8	1:16	1:64	n.u.	n.u.

1) Tagesdosis 5,0 mg/Tier

2) Tagesdosis 1,0 mg/Tier

3) Dosis 0,1 ml s.c.

4) nicht untersucht

Gruppe dagegen setzte die AK-Bildung verzögert ein und erst 4 Wochen p.vacc. konnte ein Titer ermittelt werden, der in der 5. Woche mit 1:8 den Maximalwert der Kontrollen erreichte.

Wurde die Antibiotikabehandlung nach der Impfung durchgeführt, so unterschieden sich die AK-Titer der mit Terramycin wie der mit Refobacin behandelten Gruppe nicht signifikant von denen der Kontrollen.

Bei Vakzination mit 4 Lf Tetanustoxoid wurde bei den unbehandelten Kontrollen ein Titermaximum von 1:32 nachgewiesen. In den vor der Vakzination mit Antibiotika behandelten Gruppen lag der höchste AK-Titer bei den mit Terramycin behandelten Tieren mit 1:64 nicht signifikant darüber und entsprach ebenso wie in der Refobacin-Gruppe mit 1:32 dem der Kontrollen. Erfolgte die Antibiotikabehandlung nach der Vakzination, so waren die AK-Titer der Terramycin-Gruppe mit einem Maximum von 1:16 gegenüber den Kontrollen ebenfalls nicht signifikant herabgesetzt, während die AK-Titer der Refobacin-Gruppe mit einem Maximum von 1:128 deutlich den Wert der Kontrollen überstieg (siehe Tabelle 1b).

Eine 7tägige zytostatische Behandlung einer Kontrollgruppe mit Endoxan vor der Vakzination führte weder bei einer Impfdosis von 2 Lf noch von 4 Lf zu einer signifikanten Beeinträchtigung der Antikörperbildung in der Maus.

Wurde das Zytostatikum jedoch nach der Impfung verabreicht, so erwies sich die AK-Bildung nach einer Impfdosis von 2 Lf als vollständig, nach einer Dosis von 4 Lf als weitgehend unterdrückt.

Eine Beeinträchtigung des Allgemeinzustandes der Tiere war in keinem Fall zu beobachten (siehe Tabelle 2).

TABELLE 1b

Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf die Bildung haemagglutinationshemmender Antikörper in der Maus nach der Vakzination mit Tetanus-Toxoid

AB-Behandlung Präparat	Zeitraum	Vakzination 3)		AK-Titer p.vacc.					
		Dosis	Zeitpunkt	2 WO	3 WO	4 WO	5 WO	6 WO	
Kontroll- gruppe		2 Lf	Tag 0	1:8	1:4	1:8	1:4	1:8	
Terramycin ^R 1) Refobacin ^R 2)	-7.bis-1.Tag	"	"	1:8	1:16	1:32	1:32	1:32	
	-7.bis-1.Tag	"	"	-	-	1:4	1:8	1:8	
Terramycin ^R Refobacin ^R	+1.bis+7.Tag	"	"	1:8	1:16	1:8	1:8	1:8	
	+1.bis+7.Tag	"	"	1:2	1:4	1:8	1:8	1:8	
Kontroll- gruppe		4 Lf	Tag 0	-	1:8	1:8	1:32	1:16	
Terramycin ^R Refobacin ^R	-7.bis-1.Tag	"	"	1:8	1:16	1:64	1:16	1:64	
	-7.bis-1.Tag	"	"	1:2	1:8	1:32	1:16	1:16	
Terramycin ^R Refobacin ^R	+1.bis+7.Tag	"	"	1:4	1:8	1:16	1:8	1:8	
	+1.bis+7.Tag	"	"	1:2	1:2	1:32	1:128	1:16	

1) Tagesdosis: 0,5 mg/Tier

2) Tagesdosis: 0,125 mg/Tier

3) Dosis/0,1 ml s.c.

TABELLE 2

Einfluß einer Behandlung mit dem Zytostatikum Endoxan R auf die Bildung haemagglutinationshemmender Antikörper bei der Maus nach Vakzination mit Tetanustoxoid

Behandlung	Zeitraum	Vakzination 2)		AK-Titer p.vacc.		
		Dosis	Zeitpunkt	2 WO	3 WO	4 WO
Kontrollgruppe	-	2 Lf	Tag 0	1:16	1:32	1:64
Endoxan R 1)	-7.bis-1.Tag	"	"	1: 2	1:16	1:32
	+1.bis+7.Tag	"	"	- 3)	-	-
Kontrollgruppe	-	4 Lf	Tag 0	1: 4	1:16	1:32
Endoxan R	-7.bis-1.Tag	"	"	1:16	1:16	1:64
	+1.bis+7.Tag	"	"	-	1: 2	1: 2

1) Tagesdosis pro Tier: 1,0 mg

2) Dosis / O,1 ml s.c.

3) keine Antikörperbildung

3.2.1.2. Salmonellose / Maus

Nach der Vakzination gegen Salmonella typhimurium betrug das AK-Maximum bei den unbehandelten Impfkontrollen 1:32, bei allen vor der Vakzination mit Antibiotika behandelten Gruppen 1:64. Neben diesem nicht signifikanten Titerunterschied fiel ein schnellerer Titeranstieg in den behandelten Gruppen auf: bereits 3 Wochen p.vacc. lag bei den mit Baypen, Terramycin und Refobacin behandelten Gruppen ein AK-Titer von 1:32 und in der Paraxin-Gruppe von 1:64 vor, während der der unbehandelten Kontrollen zu diesem Zeitpunkt nur 1:8 betrug.

Wurden die Antibiotika nach der Vakzination appliziert, so entsprachen die AK-Titer der mit Baypen behandelten Gruppe denen der Kontrollen. Die Maxima in der Terramycin-Gruppe waren mit 1:64 nicht signifikant, in der Paraxin- und Refobacin-Gruppe mit 1:256 bzw. 1:128 deutlich erhöht. Auch bei dieser Versuchsanordnung setzte die Antikörperbildung der mit Paraxin, Terramycin oder Refobacin behandelten Gruppen sogar schon 2 Wochen p.vacc. gegenüber den Kontrollen verstärkt ein (siehe Tabelle 3).

3.2.1.3. Pocken / Maus

Antikörperbildung gegen Vaccinia-Virus, Stamm Elstree

Bei den unbehandelten Impfkontrollen kam es zwischen 2. bis 6. Woche p.vacc. zu einem kontinuierlichen Anstieg der AK-Titer von 1:1,4 auf 1:13. Von den vor der Vakzination mit Antibiotika behandelten Tieren blieb die Baypen- wie die Refobacin-Gruppe - bei gleichen Anfangstitern - mit einem Maximum von 1:4 bzw. 1:7 deutlich unter dem der Kontrollen. In der Paraxin-Gruppe betrug der 2 Wochen-Titer bereits 1:4, stieg nach weiteren 2 Wochen auf 1:23 an und fiel nach der 6. Woche auf den Kontrollwert von 1:13 zurück. Waren die Tiere mit Terramycin behandelt, so wurde bei einem hohen Anfangs-

titer von 1:8 nur ein Maximalwert von 1:10 erreicht, der nach der 6. Woche auf 1:7 absank.

Erfolgte die Antibiotikabehandlung nach der Impfung, so entsprachen die AK-Titer 2 Wochen p.vacc. in allen Gruppen denen der unbehandelten Kontrollen. Während in der Baypen- und der Refobacin-Gruppe die maximal erzielten AK-Titer von jeweils 1:8 wiederum den Wert der Kontrollen unterschritten, konnte jetzt nicht nur in der Paraxin-Gruppe mit 1:25, sondern auch in der Terramycin-Gruppe mit 1:38 ein signifikant gesteigerter Maximalwert beobachtet werden. Allerdings fielen auch diese Werte nach der 6. Woche wieder unter den Wert der Kontrollen ab (siehe Tabelle 4).

Antikörperbildung gegen Vaccinia Virus, Stamm MVA

Auch nach der Vakzination mit dem Stamm MVA erfolgte bei den unbehandelten Impfkontrollen ein kontinuierlicher Anstieg der AK-Titer 2 bis 6 Wochen p.vacc. von 1:1,2 auf 1:7. Die 2 Wochen-Titer aller behandelten Gruppen wichen mit maximal 1:2,4 nur geringfügig von denen der Kontrollen ab. Nach einer Antibiotikabehandlung vor der Vakzination waren die Maximal-Titer in der Baypen- und Paraxin-Gruppe mit jeweils 1:19 und der Terramycin-Gruppe mit 1:13 gegenüber den Kontrollen deutlich erhöht. Der Maximalwert der Refobacin-Gruppe entsprach dem der Kontrollen. Wurde die Antibiotikabehandlung nach der Vakzination durchgeführt, konnten nur leicht erhöhte Titer in den mit Baypen, Terramycin und Refobacin behandelten Gruppen festgestellt werden.

Insgesamt war auffallend, daß es in allen behandelten Gruppen - unabhängig vom Behandlungszeitpunkt - zu einem wesentlich schnelleren Titeranstieg, aber auch zu einem früheren Absinken der Titer kam als in der Kontrollgruppe (siehe Tabelle 5).

TABELLE 3

Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf die Bildung O-Antigen-spezifischer Antikörper in der Maus nach Vakzination ¹⁾ gegen Salmonellose

Behandlung 2)		Zeitpunkt der Vakzination	AK-Titer nach der Vakzination				
Präparat	Zeitraum		2 Wochen	3 Wochen	4 Wochen	5 Wochen	6 Wochen
Kontroll- gruppe	-	Tag 0	1: 8	1: 8	1: 16	1: 32	1: 16
Baypen ^R	-7.bis-1.Tag	"	1: 8	1: 32	1: 64	1: 32	1: 64
Paraxin ^R	"	"	1: 16	1: 64	1: 64	1: 64	1: 64
Terramycin ^R	"	"	1: 4	1: 32	1: 32	1: 64	1: 64
Refobacin ^R	"	"	1: 32	1: 32	1: 32	1: 32	1: 64
Baypen ^R	+1.bis+7.Tag	"	1: 4	1: 16	1: 16	1: 32	1: 16
Paraxin ^R	"	"	1: 64	1: 32	1: 32	1: 32	1: 256
Terramycin ^R	"	"	1: 32	1: 32	1: 32	1: 32	1: 64
Refobacin ^R	"	"	1: 32	1: 32	1: 128	1: 64	1: 32

1) einmalige Applikation von 0,1 ml i.p.

2) Tagesdosis pro Tier: Baypen R 5,0 mg Terramycin R 0,5 mg
Paraxin R 1,0 mg Refobacin R 0,125 mg

Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf die Bildung neutralisierender Antikörper in der Maus nach Vakzination mit dem Vacciniavirus, Stamm Elstree ¹⁾

Behandlung ²⁾		Zeitpunkt der Vakzination	AK - Titer nach der Vakzination					
Präparat	Zeitraum		2 Wochen	3 Wochen	4 Wochen	5 Wochen	6 Wochen	
Kontrollgruppe	-	Tag 0	1:1,4	1:1,7	1:5	1:6	1:13	
Baypen ^R	-7. bis -1. Tag	"	1:1,4	1:4	1:2	1:2,8	1:4	
Paraxin ^R	"	"	1:4	1:3,4	1:23	1:10	1:13	
Terramycin ^R	"	"	1:8	1:2	1:5	1:10	1:7	
Refobacin ^R	"	"	1:1,4	1:5	1:5	1:7	1:2	
Baypen ^R	+1. bis +7. Tag	"	1:1,7	1:6	1:3,4	1:4	1:8	
Paraxin ^R	"	"	1:1,4	1:3,4	1:25	1:20	1:5	
Terramycin ^R	"	"	1:1,4	1:8	1:3,4	1:38	1:6	
Refobacin ^R	"	"	1:1,4	1:7	1:4	1:2,8	1:8	

1) einmalige Applikation von $10^{6,25}$ FHE-KID₅₀/0,1 ml i.p.

2) Tagesdosis pro Tier: Baypen ^R 5,0 mg
 Paraxin ^R 1,0 mg
 Terramycin ^R 0,5 ml
 Refobacin ^R 0,125 mg

TABELLE 5

Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf die Bildung neutralisierender Antikörper
in der Maus nach Vakzination mit dem Vacciniavirus, Stamm MVA ¹⁾

Behandlung ²⁾		Zeitpunkt der Vakzination	AK-Titer nach der Vakzination				
Präparat	Zeitraum		2 Wochen	3 Wochen	4 Wochen	5 Wochen	6 Wochen
Kontroll- gruppe	-	Tag 0	1:1,17	1: 2	1: 2	1: 4	1: 7
Baypen ^R	-7.bis-1.Tag	"	1:2,4	1:19	1: 7	1: 2,8	1: 5
Paraxin ^R	"	"	1:1,7	1: 7	1:16	1:19	1: 4
Terramycin ^R	"	"	1:1,7	1: 8	1:13	1:13	1: 2
Refobacin ^R	"	"	1:1,7	1: 7	1: 8	1: 6	1: 1,7
Baypen ^R	+1.bis+7.Tag	"	1:2,4	1: 3,4	1: 7	1:11	1: 5
Paraxin ^R	"	"	1:1,7	1: 4	1: 8	1: 7	1: 3,4
Terramycin ^R	"	"	1:1,4	1: 8	1: 4	1:10	1:10
Refobacin ^R	"	"	1:2,4	1: 5	1:10	1: 6	1: 5

1) einmalige Applikation von $10^{6,25}$ FHE-KID₅₀/0,1 ml i.p.

2) Tagesdosis pro Tier: Baypen ^R 5,0 mg
Paraxin ^R 1,0 mg
Terramycin ^R 0,5 mg
Refobacin ^R 0,125 mg

2.1.4. Pferdeinfluenza / Kaninchen

Antikörperbildung gegen A/equi 1, Stamm Prag nach Baypen- und Paraxin-Behandlung

In der mit Baypen und Paraxin behandelten, sowie in der unbehandelten Kontrollgruppe waren bereits 14 Tage nach der Impfung bei allen Tieren Antikörper nachweisbar. Das Titermaximum wurde 3-4 Wochen p.vacc. erreicht und lag bei allen Gruppen in vergleichbarer Höhe. 6 Wochen nach der Impfung war die Tendenz zu einem leichten Titerabfall zu beobachten (siehe Tabelle 6a).

Antikörperbildung gegen A/equi 2, Stamm Miami

2 Wochen nach der Impfung waren in allen Gruppen nur bei einzelnen Tieren Antikörper feststellbar. Von der 3. bis 6. Woche lagen die Titer der mit Baypen behandelten und der Kontrollgruppe in annähernd gleicher Höhe, ein deutliches Maximum war nicht zu erkennen. Auffallend war, daß bei den mit Paraxin, besonders nach der Impfung behandelten Tieren die Antikörperbildung stark verzögert eintrat. Hier reagierten erst 6 Wochen nach der Impfung alle Seren positiv. Insgesamt lagen alle erreichten Titer niedriger als die gegen A/equi 1, Stamm Prag (siehe Tabelle 6b).

Antikörperbildung gegen A/equi 2, Stamm Fontainebleau

Die ermittelten Antikörper-Titer waren - bis auf die vor der Impfung mit Paraxin behandelten Gruppe - durchwegs noch niedriger als gegen den Stamm Miami. Bis auf eine Ausnahme in der oben genannten Gruppe reagierten 2 Wochen nach der Impfung alle Seren negativ und in allen Gruppen traten über den gesamten Untersuchungszeitraum Nicht-Reagenten auf. Die höchste Anzahl bis zur 6. Woche negativer Seren war wiederum in der nach der Impfung mit Paraxin behandelten Gruppe festzustellen (siehe Tabelle 6b).

TABELLE 6a

Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf die Bildung haemagglutinationshemmender Antikörper gegen Influenza A/equi 1, Stamm Prag im Kaninchen nach Vakzination mit Prevacun F¹⁾

AB-Behandlung		Zeitpunkt der Vakzination	AK-Titer nach der Vakzination					
Präparat	Zeitraum		2 WO	3 WO	4 WO	5 WO	6 WO	
Kontroll- gruppe		Tag 0	40*) 40 40 40	80 80 40 40	80 80 40 40	80 30 40 40	40 40 40 40	
Baypen R 2)	-7,bis-1.Tag	"	40 40 40	40 40 40	40 40 80	40 40 80	40 40 40	
Paraxin R 3)	-7.bis-1.Tag	"	40 40 20 20 20	40 40 80 20 20	80 80 80 40 20	40 40 80 40 40	80 40 40 80 40	
Baypen R	+1.bis+7.Tag	"	20 40 20	40 80 80	40 80 80	40 80 40	40 40 40	
Paraxin R	+1.bis+7.Tag	"	40 20 20 40 40	40 40 40 40 80	40 40 40 40 40	80 40 40 40 40	40 40 40 40 40	

- 1) 1malige subcutane Applikation von 1 ml/Tier
 2) Tagesdosis 400 mg/Tier
 3) Tagesdosis 80 mg/Tier
 *) AK-Titer/Einzeltier

TABELLE 6b

Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf die Bildung haemagglutinationshemmender Antikörper gegen Influenza A/equi 2, Stamm Miami bzw. Fontainebleau im Kaninchen nach Vakzination mit Prevacun F R 1)

AB-Behandlung		Zeitpunkt der Vakzination	AK-Titer gegen Miami/Fontainebleau							
Präparat	Zeitraum		2 WO	3 WO	4 WO	5 WO	6 WO			
Kontroll- gruppe		Tag 0	- / - 20/- - / - - / -	20/20 ^x 40/20 20/- 20/-	20/20 40/20 20/- 40/20	40/20 40/20 20/- 40/20	20/20 40/20 20/- 40/20			
Baypen R 2)	- 7. bis - 1. Tag	"	- / - 20/- 20/-	20/- 20/40 20/-	20/20 20/40 20/-	20/20 20/20 40/20	40/40 40/40 20/-			
Paraxin R 3)	- 7. bis - 1. Tag	"	- / - - / - - / - 20/20	- /20 20/20 - /20 - / - 40/20	40/80 40/80 20/20 - / - 40/20	20/20 20/20 20/20 20/- 40/40	20/- 20/20 40/20 20/- 40/40			
Baypen R	+ 1. bis + 7. Tag	"	- / - - / - - / -	- /20 40/- 20/-	20/20 20/- 20/-	20/20 20/- 40/20	20/20 20/- 40/-			
Paraxin R	+ 1. bis + 7. Tag	"	20/- - / - - / - - / -	20/20 - / - - / - - /20 20/-	20/20 - / - - / - - /20 20/-	20/20 - / - - / - - /20 20/-	20/- 20/- 20/- 20/- 20/20			

1) 1malige subcutane Applikation von 1 ml

2) Tagesdosis 400 mg/Tier

3) Tagesdosis 80 mg/Tier

x erste Titerangabe gegen Stamm Miami, zweite Titerangabe gegen Stamm Fontainebleau

Antikörperbildung gegen A/equi 1, Stamm Prag,
nach Terramycin und Refobacin-Behandlung

Nach einem zögernden Einsetzen der AK-Bildung (2 Wochen p.vacc. war nur 1 von 5 Tieren positiv) erreichten die AK-Titer der unbehandelten Impfkontrollen 4 Wochen p.vacc. ihr Maximum, das auch nach 6 Wochen in gleicher Höhe persistierte. Vor der Vakzination mit Terramycin behandelte Tiere wiesen einen zeitlich entsprechenden Anstieg der AK-Bildung, aber einen deutlichen Titerabfall bis zur 6. Woche p.vacc. auf. Das ermittelte Maximum lag nur geringgradig unter dem der Kontrollen. In der mit Refobacin behandelten Gruppe dagegen konnten bereits 2 Wochen p.vacc. bei allen Tieren Antikörper festgestellt werden. Das ebenfalls nach 4 Wochen erreichte Maximum überstieg die AK-Titer der Kontrollen und fiel bis zur 6. Woche nur auf die Höhe der Kontrollwerte ab.

Bei Applikation der Antibiotika nach der Vakzination ergaben sich sowohl in der Terramycin- als auch in der Refobacin-Gruppe keine signifikanten Unterschiede gegenüber den Kontrollen in Anstieg, Höhe und Persistenz der AK-Titer (siehe Tabelle 7a).

Antikörperbildung gegen A/equi 2, Stamm Miami

In allen Gruppen waren 2 und 3 Wochen nach der Vakzination nur bei einzelnen oder gar keinem der untersuchten Tiere Antikörper nachweisbar. Selbst nach 6 Wochen reagierten in der Kontrollgruppe nur 4 von 5 Tieren AK-positiv. In der vor der Vakzination mit Terramycin behandelten Gruppe zeichnete sich eine noch geringere AK-Bildung ab. Dagegen wiesen alle Tiere der Refobacin-Gruppe 4 Wochen p.vacc. AK-Titer auf, die sehr deutlich über denen der Kontrolltiere lagen. Allerdings kam es hier bis zur 6. Woche wieder zu einem Titerabfall auf mit den Kontrollen vergleichbare Werte.

Die AK-Titer der nach der Vakzination mit Terramycin bzw. Refobacin behandelten Gruppen wiesen keine signifikanten Unterschiede zu denen der unbehandelten Impfkontrollen auf.

Antikörperbildung gegen A/equi 1, Stamm Fontainebleau

Antikörper gegen den Stamm Fontainebleau konnten bei den Kontrollen bis 5 Wochen p.vacc. nur vereinzelt festgestellt werden. Erst nach 6 Wochen reagierten alle Tiere der Gruppe AK-positiv.

In der vor der Vakzination mit Terramycin behandelten Gruppe traten im gesamten Untersuchungszeitraum die meisten "Nichtreagenten" auf, während die Refobacin-Gruppe auch gegen diesen Virusstamm mit relativ hohen AK-Titern aller Tiere 4 Wochen nach der Impfung imponierte. Auch hier fielen jedoch die Titer bis 6 Wochen p.vacc. auf die Höhe der Kontrollen ab.

Bei der nach der Impfung mit Terramycin bzw. Refobacin behandelten Gruppen fiel auf, daß 4 Wochen p.vacc. deutlich mehr positive Reagenten zu verzeichnen waren als in der Kontrollgruppe. In der Titerhöhe und Persistenz der Antikörper waren keine Unterschiede zu den Kontrollen zu erkennen (siehe Tabelle 7b).

Eine 7tägige zytostatische Behandlung der Kaninchen mit Endoxan vor der Impfung mit Prevacun F^R ließ keinen Einfluß auf die AK-Bildung gegen alle drei enthaltenen Influenza A-Impfstämme erkennen. Erfolgte die zytostatische Behandlung nach der Vakzination, so zeichnete sich eine leichte Verzögerung beim Erreichen der Titer-Maxima gegen A/equi 1, Stamm Prag ab. Die ohnehin sehr schwache AK-Bildung gegen A/equi 2, Stamm Miami blieb unbeeinflusst, während die Anzahl der positiven Reagenten gegen A/equi 2, Stamm Fontainebleau gegenüber den unbehandelten Impfkontrollen deutlich erhöht wurde.

TABELLE 7a

Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf die Bildung haemagglutinationshemmender Antikörper gegen Influenza A/equi 1, Stamm Prag im Kaninchen nach Vakzination mit Prevacun F 1)

AB-Behandlung Präparat	Zeitraum	Zeitpunkt der Vakzination	AK-Titer nach der Vakzination					
			2 WO	3 WO	4 WO	5 WO	6 WO	
Kontroll- gruppe		Tag 0	- - 20 -	20 40 40 40	40 40 80 80	40 20 40 40	80 40 40 80	
Terramycin ^R 2)	-7.bis -1.Tag	"	- 20 - -	- 40 20 20	20 40 40 40	20 40 20 -	- 40 20 40	
Refobacin ^R 3)	-7.bis -1.Tag	"	20 20 20 20	20 20 40 80	80 80 80 160	20 40 40 80	40 80 80 40	
Terramycin ^R	+1.bis +7.Tag	"	20 20 - -	20 20 40 20	80 40 40 80	80 20 20 40	40 20 20 40	
Refobacin ^R	+1.bis +7.Tag	"	20 - 20 -	40 20 40 20	80 80 80 80	80 20 80 20	80 40 80 40	

- 1) 1malige subcutane Applikation von 1 ml/Tier
 2) Tagesdosis pro Tier: 40 mg
 3) Tagesdosis pro Tier: 10 mg

Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf die Bildung haemagglutinationshemmender Antikörper gegen Influenza A/equi 2, Stamm Miami bzw. Fontainebleau im Kaninchen nach Vakzination mit Prevacun F R 1)

AB-Behandlung Präparat	Zeitpunkt der Vakzination	AK-Titer gegen Miami/Fontainebleau					
		2 WO	3 WO	4 WO	5 WO	6 WO	
Kontroll- gruppe	Tag 0	- / - - / - - / - 20/- - / -	- / - - / - - / - - / 20 - / -	20/20 ^x - / - 20/- - / - 20/-	20/- - / - 20/- - / 20 20/-	40/40 - / 20 40/40 20/40 20/20	1) 1malige sub- cutane Appli- kation von 1 ml/Tier
Terramycin ^R 2)	"	- / - - / - - / - - / - - / -	- / - - / - - / - - / - - / -	- / - - / - 20/20 - / - - / -	- / - - / - - / - - / - - / -	20/- 20/20 - / - 20/20 - / -	2) Tagesdosis pro Tier: 40 mg
Refobacin ^R 3)	"	- / - - / - 20/- 20/- - / -	- / 20 - / - - / 20 - / - - / -	40/80 40/80 80/40 160/160 40/40	- / 20 20/20 20/- 40/40 20/20	- / 20 20/20 40/20 - / - 40/20	3) Tagesdosis pro Tier: 10 mg
Terramycin ^R + 1.bis + 7.Tag	"	20/- - / - 20/- - / - - / -	20/20 - / - 20/20 - / - - / -	20/20 - / - 20/20 20/20 20/-	20/20 20/- 40/- 20/20 - / -	40/20 - / 20 20/20 40/20 - / -	x erste Titer- angabe gegen Stamm Miami, zweite Titer- angabe gegen Stamm Fontainebleau
Refobacin ^R + 1.bis + 7.Tag	"	- / - - / - - / - - / - - / -	- / - 20/- - / - - / - - / -	20/20 - / 20 20/20 20/20 20/20	- / - 20/- - / - - / - 20/20	20/20 - / - 20/40 20/20 40/20	

TABELLE 8

Einfluß einer zytostatischen Behandlung mit Endoxan R 1) auf die Bildung haemagglutinationshemmender Antikörper gegen Influenza A/equi 1 und 2 im Kaninchen nach der Vakzination mit Prevacun F R 2)

Behandlung	AK-Titer nach der Vakzination gegen													
	A/equi 1, Stamm Prag					A/equi 2, Stamm Miami					A/equi 2, Stamm Fontainebleau			
	2 WO	3 WO	4 WO	5 WO		2 WO	3 WO	4 WO	5 WO		2 WO	3 WO	4 WO	5 WO
Kontroll- gruppe	-	20	40	40		-	-	20	20		-	-	20	-
	-	40	40	20		-	-	-	-		-	-	-	-
	-	40	40	20		-	-	20	20		-	-	-	-
	20	40	80	40		20	-	-	-		-	20	-	20
	-	40	80	40		-	-	20	20		-	-	-	-
Endoxan R -7.bis-1. Tag vor der Vakzination	-	40	80	20		-	20	40	20		-	20	40	-
	-	20	-	-		-	-	20	-		-	-	20	-
	-	20	80	40		-	-	-	-		-	-	-	-
	20	20	40	20		20	-	20	20		-	-	20	-
	-	20	40	-		-	-	20	-		-	-	-	-
Endoxan R +1.bis+7. Tag nach der Vakzination	-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-
	20	40	20	40		-	-	20	20		-	-	20	40
	20	20	40	80		-	-	-	-		-	-	20	40
	-	20	20	40		-	-	-	-		-	-	20	20
	-	20	40	80		-	20	20	20		-	-	20	20

- 1) Tagesdosis pro Tier: 80 mg
- 2) einmalige Applikation von 1 ml s.c.

Alle Tiere zeigten nach der zytostatischen Behandlung ein mehr oder weniger stark reduziertes Allgemeinbefinden mit Appetitlosigkeit, hochgradiger Kachexie und Alopezie (siehe Tabelle 8).

3.2.2. Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf die Vermehrung von Impfviren

Nach der Impfung mit dem Vacciniavirus, Stamm Elstree, konnte bei Organentnahme am 2. Tag p.vacc. in einer Milz der nicht vorbehandelten Kontrollgruppe, ebenfalls einer Milz der mit Refobacin behandelten und in einer Niere der mit Paraxin behandelten Gruppe vermehrungsfähiges Virus nachgewiesen werden. Alle anderen Organproben zu diesem Zeitpunkt, sowie sämtliche Proben der übrigen Zeiten enthielten kein vermehrungsfähiges Virus (siehe Tabelle 9).

Nach der Vakzination mit dem Vacciniavirus, Stamm MVA, erwiesen sich sämtliche Organproben über den gesamten Untersuchungszeitraum als virus-negativ, gleichgültig ob die Tiere mit Antibiotika vorbehandelt waren oder nicht (siehe Tabelle 10).

Bei den mit dem neurovirulenten Vacciniavirus, Stamm M₁, infizierten positiven Kontrollen (ohne Antibiotikabehandlung) gelang der Virusnachweis vom 2. - 4. Tag p.inf. ausnahmslos in allen untersuchten Organen.

3.2.3. Einfluß einer Antibiotikabehandlung auf den paraspezifischen Anteil des Immunsystems der Maus

3.2.3.1. Milzgewicht und Lymphozytenausbeute/Milz

Bei nicht signifikanten Unterschieden im Körpergewicht der Gruppen während des Untersuchungszeitraums ließ sich am 1. Tag nach der Behandlung mit Baypen ein extrem

TABELLE 9

Einfluß einer 7tägigen Antibiotikavorbereitung auf die Vermehrung von Impfvirus in Organen der Maus nach Vakzination mit dem Vacciniavirus, Stamm Elstree ¹⁾

Antibiotika- behandlung	Organ	Virusnachweis bei Organentnahme p.vacc.	
		2. Tag	3./4./5./7. Tag
Baypen ^R (Tagesdosis 5,0 mg)	Milz Leber Niere Lunge Blut	- - - - -	- negativ -
Paraxin ^R (Tagesdosis 1,0 mg)	Milz Leber Niere Lunge Blut	- - + 2) - -	- negativ -
Terramycin ^R (Tagesdosis 0,5 mg)	Milz Leber Niere Lunge Blut	- - - - -	- negativ -
Refobacin ^R (Tagesdosis 0,125 mg)	Milz Leber Niere Lunge Blut	+ - - - -	- negativ -
unbehandelte Impf- kontrollen (Stamm Elstree)	Milz Leber Niere Lunge Blut	+ - - - -	- negativ -
positive Kontrolle (Stamm M ₁)	Milz Leber Niere Lunge Blut	+++ 3) +++ +++ +++ +++	5./7. Tag: nicht untersucht

1) einmalige Applikation von 10^{6,25} FHE-KID₅₀/0,1 ml i.p.

2) + Virusnachweis bei 1/3 Tieren

3) +++ Virusnachweis bei 3/3 Tieren 2.-4. Tag

TABELLE 10

Einfluß einer 7tägigen Antibiotikavorbehandlung auf die Vermehrung von Impfvirus¹⁾ in Organen der Maus nach Vakzination mit dem Vacciniavirus, Stamm MVA¹⁾

Antibiotika-behandlung	Organ	Virusnachweis bei Organentnahme p.vacc. 2./3./4./5./7. Tag
Baypen ^R (Tagesdosis 5,0 mg)	Milz Leber Niere Lunge Blut	- negativ -
Paraxin ^R (Tagesdosis 1,0 mg)	Milz Leber Niere Lunge Blut	- negativ -
Terramycin ^R (Tagesdosis 0,5 mg)	Milz Leber Niere Lunge Blut	- negativ -
Refobacin ^R (Tagesdosis 0,125 mg)	Milz Leber Niere Lunge Blut	- negativ -
unbehandelte Impf- kontrollen (Stamm MVA)	Milz Leber Niere Lunge Blut	- negativ -
positive Kontrolle (Stamm M ₁)	Milz Leber Niere Lunge Blut	+++ ²⁾ +++ 5./7. Tag +++ nicht untersucht +++ +++

1) einmalige Applikation von $10^{6,25}$ FHE-KID₅₀/0,1ml i.p.

2) +++: Virusnachweis bei 3/3 Tieren 2.-4. Tag

starker Abfall des Milzgewichts auf durchschnittlich 30 mg gegenüber einem Durchschnittsgewicht von 150 mg bei den unbehandelten Kontrollen feststellen. Das Milzgewicht der mit Paraxin behandelten Tiere lag mit einem Mittelwert von 110 mg nur geringgradig unter dem der Kontrollen. Am 5. und 11. Tag nach der Antibiotikabehandlung lagen die Milzwerte aller Gruppen im Normbereich.

Parallel zum Milzgewicht war die durchschnittliche Lymphozytenausbeute/Milz am 1. Tag nach der AB-Behandlung in der Baypen-Gruppe mit $1,7 \times 10^7$ gegenüber 4×10^7 bei den Kontrollen stark, in der Paraxin-Gruppe mit $2,7 \times 10^7$ Zellen in geringerem Maße erniedrigt.

Während die Lymphozytenausbeute der Paraxin-Gruppe am 5. und 11. Tag den Werten der Kontrollgruppe entsprach, war die Zellausbeute der Baypen-Gruppe mit $3,0 \times 10^7$ am 5. Tag noch erniedrigt, überstieg aber mit $8,0 \times 10^7$ Zellen am 11. Tag deutlich den Wert der unbehandelten Kontrollen (siehe Tabelle 11a).

Am 1., 5. und 11. Tag nach einer 7tägigen Antibiotikabehandlung mit Terramycin bzw. Refobacin konnten - bei vergleichbarem Körpergewicht aller Gruppen - insgesamt keine gravierenden Unterschiede zwischen dem Milzgewicht und der Lymphozytenausbeute aus der Milz der behandelten Tiere und den entsprechenden Werten der unbehandelten Kontrollgruppe festgestellt werden. Einziglich am 1. Tag nach der Behandlung mit Terramycin deutlich erniedrigtes Milzgewicht mit einem Mittelwert von 120 mg gegenüber 166 mg bei den Kontrolltieren war nicht mit einer Reduktion der Lymphozytenausbeute verbunden (siehe Tabelle 11b).

TABELLE 11 a

Milzgewicht und Lymphozytenausbeute aus der Mäusemilz am 1., 5. und 11. Tag nach 7tägiger Antibiotikavorbereitung der Tiere

Behandlung 2)	Körpergewicht in g 1)			Milzgewicht in mg 1)			Lymphozytenausbeute x 10 ⁷ 1)		
	1.Tag	5.Tag	11.Tag	1.Tag	5.Tag	11.Tag	1.Tag	5.Tag	11.Tag
unbehandelte Kontrollen	31,15	29,90	30,91	150	140	160	4,0	4,8	4,7
Baypen R	26,93	29,60	31,64	30	160	180	1,7	3,0	8,0
Paraxin R	27,40	30,44	31,81	110	180	180	2,7	4,9	5,0

1) Mittelwerte aus 5 Tieren

2) Tagesdosis pro Tier: Baypen 5,0 mg
Paraxin 1,0 mg

TABELLE 11 b

Milzgewicht und Lymphozytenausbeute aus der Mäusemilz am 1., 5. und 11. Tag nach 7tägiger Antibiotikavorbehandlung der Tiere

Behandlung	2)			1)			1)			1)		
	1.Tag	5.Tag	11.Tag	1.Tag	5.Tag	11.Tag	1.Tag	5.Tag	11.Tag	1.Tag	5.Tag	11.Tag
unbehandelte Kontrollen	26,60	28,25	29,65	166	150	155	3,0	4,4	3,1			
Terramycin R	25,60	27,45	29,30	120	145	165	3,3	3,5	2,5			
Refobacin R	27,20	27,95	29,87	147	130	165	3,7	4,0	2,9			

1) Mittelwerte aus 5 Tieren

2) Tagesdosis pro Tier: Terramycin 0,5 mg
Refobacin 0,125 mg

3.2.3.2. Untersuchung der mitogenen Stimulierbarkeit im LTT

Am 1. Tag nach 7tägiger Behandlung mit Baypen war die Stimulierbarkeit der Milzlymphozyten durch PHA mit 629 cpm $\bar{x}$ gegenüber 868 cpm $\bar{x}$ in der unbehandelten Kontrollgruppe leicht erniedrigt. Der erhöhte Wert von 961 cpm $\bar{x}$ gegenüber 633 cpm $\bar{x}$ der Kontrollen nach Stimulierung mit ConA war nicht signifikant. Sehr stark herabgesetzt war die Stimulierbarkeit durch LPS. Gegenüber 1447 cpm $\bar{x}$ der Kontrollen wurden in der Baypen-Gruppe nur 389 cpm $\bar{x}$ gemessen.

Nach der Behandlung mit Paraxin wiesen die Lymphozyten bei Stimulierung mit PHA bei 1034 cpm $\bar{x}$ keine signifikanten Unterschiede zu den Kontrollen auf. Die Wirksamkeit von ConA war mit 1193 cpm $\bar{x}$ deutlich erhöht, während die Stimulierung durch LPS mit 812 cpm $\bar{x}$ zwar schwächer als in der Baypen-Gruppe, aber doch deutlich gegenüber den Kontrollen vermindert war.

Am 5. Tag nach der AB-Behandlung war bei der Baypen-Gruppe die Stimulierbarkeit durch alle drei Mitogene vollständig unterdrückt. In der Paraxin-Gruppe blieb ConA ebenfalls wirkungslos, während die durch PHA erzielten cpm $\bar{x}$ auf 120 gegenüber 291 cpm $\bar{x}$ der Kontrollen reduziert waren. Die Wirksamkeit von LPS war mit 313 cpm $\bar{x}$ gegenüber 614 cpm $\bar{x}$ der Kontrollgruppe am wenigsten erniedrigt.

Am 11. Tag nach der Behandlung mit Baypen war die Stimulierbarkeit der Lymphozyten durch PHA noch immer unterdrückt und durch ConA mit 80 cpm $\bar{x}$ gegenüber 178 cpm $\bar{x}$ der Kontrollen stark herabgesetzt. Die Wirksamkeit von LPS mit 485 cpm $\bar{x}$ zeigte gegenüber den Kontrollen mit 369 cpm $\bar{x}$ keine signifikante Abweichung. Nach Behandlung mit Paraxin war zu diesem Zeitpunkt die Stimulierbarkeit der Lymphozyten durch alle drei Mitogene signifikant gegenüber den unbehandelten Kontrollen

erhöht: mit PHA wurden 402 gegenüber 291 cpm $\bar{x}$, mit ConA 275 gegenüber 178 cpm $\bar{x}$ und mit LPS sogar 1180 gegenüber 369 cpm $\bar{x}$ der Kontrollen erzielt (siehe Tabelle 12a).

Die Lymphozyten aus der Milz der mit Terramycin behandelten Tiere ließen sich 1 Tag nach Abschluß der Antibiotikabehandlung im gleichen Maße durch PHA und ConA stimulieren wie die Lymphozyten der Kontrollgruppe. Die Stimulierbarkeit durch LPS war mit einem Mittelwert der counts per minute (cpm $\bar{x}$) von 546 gegenüber 1074 cpm $\bar{x}$ der Kontrollen herabgesetzt. Nach der Behandlung mit Refobacin erwies sich die Stimulierbarkeit der Lymphozyten durch PHA, ConA und besonders durch LPS als stark erniedrigt, die erreichten cpm $\bar{x}$ betrugen hier nur 319, 580 und 175 cpm $\bar{x}$ gegenüber 839, 2217 und 1074 cpm $\bar{x}$ der Kontrollen.

Am 5. Tag nach der Terramycin-Behandlung erreichten die durch PHA, ConA und LPS stimulierten Lymphozyten den Kontrollen entsprechende Werte. Die cpm $\bar{x}$ für PHA und ConA der Refobacin-Gruppe lagen im Bereich der Kontrollen, die cpm $\bar{x}$ für LPS waren mit 165 gegenüber 710 der Kontrollen noch immer stark reduziert.

Am 11. Tag nach der Behandlung mit Terramycin entsprach die Stimulierbarkeit durch PHA und ConA wiederum der der unbehandelten Kontrollen. Die Stimulierbarkeit durch LPS war jetzt mit 367 gegenüber 251 cpm $\bar{x}$ leicht erhöht. Nach Behandlung mit Refobacin konnte eine minimale Erhöhung der Stimulierbarkeit der Lymphozyten durch PHA und mit 426 bzw. 534 cpm $\bar{x}$ durch ConA bzw. LPS eine deutliche Steigerung gegenüber den Kontrollwerten mit 238 bzw. 251 cpm $\bar{x}$ festgestellt werden (siehe, Tabelle 12b).

TABELLE 12 a

Mitogene Stimulierbarkeit von Lymphozyten aus der Mäusemilz nach 7tägiger Antibiotikabehandlung der Tiere

Behandlung	Zeitpunkt nach letzter AB-Applikation	Mittelwert (n=6) der counts per minute (cpm $\bar{x}$)		
		PHA ¹⁾	ConA ²⁾	LPS ³⁾
unbehandelte Kontrollen	1. Tag	867,83	633,42	1446,58
	5. Tag	489,50	253,08	614,25
	11. Tag	291,25	178,00	369,00
Baypen R (Tagesdosis 5,0 mg)	1. Tag	629,33	961,50	389,42
	5. Tag	56,92	98,58	60,00
	11. Tag	66,00	80,50	484,58
Paraxin R (Tagesdosis 1,0 mg)	1. Tag	1034,17	1193,17	812,50
	5. Tag	120,25	45,30	313,50
	11. Tag	401,58	275,08	1180,50

Mitogene:

- 1) Phytohaemagglutinin 5 µg/ml
- 2) Concanavalin A 10 µg/ml
- 3) Lipopolysaccharid 10 µg/ml

TABELLE 12 b

Mitogene Stimulierbarkeit von Lymphozyten aus der Mäusemilz nach 7tägiger Antibiotikabehandlung der Tiere

Behandlung	Zeitpunkt nach letzter AB-Behandlung	Mittelwert (n=6) der counts per minute (cpm $\bar{x}$)		
		PHA	ConA	LPS
unbehandelte Kontrollen	1. Tag	839,08	2216,67	1074,33
	5. Tag	681,00	1156,58	710,33
	11. Tag	241,08	237,92	251,08
Terramycin R (Tagesdosis 0,5 mg)	1. Tag	772,83	2086,92	545,58
	5. Tag	976,92	1507,83	656,33
	11. Tag	307,42	253,08	367,50
Refobacin R (Tagesdosis 0,125 mg)	1. Tag	318,67	580,50	175,08
	5. Tag	540,25	919,50	164,92
	11. Tag	339,83	425,92	534,33

3.2.3.3. Nachweis der Interferoninduktion

Nach Interferoninduktion der Tiere durch NDV am 1.Tag nach 7tägiger Antibiotikabehandlung erreichten die 8-Stunden-Seren der mit Paraxin behandelten Gruppe die gleichen Titer (höchste Serumverdünnung mit 50 % Hemmung) von 1:16, wie die der unbehandelten Kontrollgruppe, während der Titer der mit Baypen behandelten Gruppe mit 1:8 leicht erniedrigt war. Dagegen war mit den 24-Stunden-Seren der Paraxin-Gruppe kein Titer zu ermitteln, der Titer von Kontroll- und Baypen-Gruppe betrug 1:2.

Nach NDV-Stimulierung am 5. Tag nach der Antibiotikabehandlung lagen wiederum die Titer der 8-Stunden-Seren der Paraxin-Gruppe und der Kontrollen mit 1:32 in gleicher Höhe. Zwar erreichten auch die Seren der Baypen-Gruppe einen Titer von 1:32, aber hier betrug die Hemmung 55 %, während sie bei den anderen Gruppen bei dieser letzten untersuchten Serumverdünnung noch 94 bzw. 90 % Plaquehemmung bewirkten. Die 24-Stunden-Seren aller drei Gruppen blieben negativ bzw. ohne signifikante Hemmwirkung.

Nach Stimulierung am 11. Tag nach der Antibiotikabehandlung lagen die Titer der 8-Stunden-Seren bei allen Gruppen in gleicher Höhe von 1:32 mit Plaquehemmungen zwischen 81 und 84 %. Auffallend war bei den 24-Stunden-Seren der relativ hohe Titer von 1:8 (71 % Hemmung) in der Baypen-Gruppe und in geringerem Maße der Titer von 1:4 (53 % Hemmung) der Paraxin-Gruppe, während die Seren der Kontrollgruppe nur eine maximale Hemmung von 47 % bewirkten (siehe Tabelle 13a).

Im PRT bewirkten die 8-Stunden-Seren der mit Terramycin behandelten Tiere nach der Interferoninduktion durch NDV am 1. Tag nach Abschluß der Antibiotikabehandlung eine vergleichbar starke Hemmung der Plaquebildung wie die Seren der Kontrolltiere. Die leichte Reduktion des

TABELLE 13 a

Nachweis von Interferon in Mäuseseren mittels Plaquereduktionstest

Behandlung	Serumverdünnung	1. Tag 1)		% Hemmung 5. Tag		11. Tag	
		8 Std.	24 Std.	8 Std.	24 Std.	8 Std.	24 Std.
positive Kontrolle	1 : 2	94	50	100	0	97	38
	1 : 4	91	31	93	7	91	47
	1 : 8	84	16	100	0	93	38
	1 : 16	63	0	93	0	93	0
	1 : 32	25	0	90	0	84	0
Baypen R 3) (Tagesdosis 5,0 mg)	1 : 2	86	59	84	0	96	88
	1 : 4	77	31	77	0	95	78
	1 : 8	63	0	74	0	96	71
	1 : 16	36	0	71	0	88	48
	1 : 32	0	0	55	0	83	14
Paraxin R 4) (Tagesdosis 1,0 mg)	1 : 2	98	19	100	19	98	66
	1 : 4	91	0	97	18	95	53
	1 : 8	87	0	94	7	95	45
	1 : 16	55	0	97	0	91	0
	1 : 32	47	0	94	0	81	0

1) Zeitpunkt der Interferoninduktion durch Newcastle Disease Virus (NDV)
nach 7-tägiger Antibiotikavorbehandlung

2) Zeitpunkt der Serumentnahme nach NDV-Applikation

TABELLE 13 b

Nachweis von Interferon in Mäuseseren mittels Plaquereduktionstest

Behandlung	Serumverdünnung	Plaquereduktion (% Hemmung)							
		1. Tag ¹⁾		5. Tag		11. Tag			
		8 Std.	24 Std.	8 Std.	24 Std.	8 Std.	24 Std.		
positive Kontrolle	1 : 2	85	15	96	43	91		34	
	1 : 4	88	25	86	21	88		23	
	1 : 8	87	10	77	0	79		0	
	1 : 16	80	0	64	0	67		0	
Terramycin R (Tagesdosis 0,5 mg)	1 : 32	69	0	41	0	51		0	
	1 : 2	85	18	82	0	88		0	
	1 : 4	79	0	74	0	79		0	
	1 : 8	72	0	60	0	90		0	
Refobacin R (Tagesdosis 0,125 mg)	1 : 16	53	0	56	0	82		0	
	1 : 32	35	0	29	0	68		0	
	1 : 2	88	15	94	45	95		21	
	1 : 4	79	0	86	20	73		0	
	1 : 8	79	0	75	0	63		0	
	1 : 16	68	0	63	0	38		0	
	1 : 32	56	0	46	0	16		0	

1) Zeitpunkt der Interferoninduktion durch Newcastle Disease Virus (NDV) nach 7-tägiger Antibiotikavorbehandlung

2) Zeitpunkt der Serumentnahme nach NDV-Applikation

Interferontiters der 8-Stunden-Seren um eine Verdünnungsstufe von 1:32 bei den Kontrollen auf 1:16 bei der Terramycin-Gruppe, sowie die verminderte Hemmwirkung der auch bei der Kontrollgruppe nur schwach wirksamen 24-Stunden-Seren lag innerhalb des natürlichen Varianzbereichs und war nicht signifikant. Auch die Wirksamkeit der Seren der mit Refobacin vorbehandelten Tiere entsprach nach NDV-Applikation am 1. Tag nach der AB-Behandlung denen der Kontrollen.

Nach NDV-Stimulierung am 5. Tag nach Abschluß der Antibiotikabehandlung lagen die Titer der 8-Stunden-Seren der Terramycin- und der Refobacin-Gruppe mit 1:16 in gleicher Höhe wie die der unbehandelten Kontrollgruppe.

Nach Stimulierung am 11. Tag nach der Terramycin-Behandlung erreichte der Titer der 8-Stunden-Seren dieser Gruppe mit 1:32 ebenfalls die Titerhöhe der Kontrollseren. Der Interferontiter der mit Refobacin vorbehandelten Gruppe lag dagegen mit 1:8 gegenüber 1:32 zwei Verdünnungsstufen unter dem der Kontrollgruppe. Die 24-Stunden-Seren aller drei Gruppen blieben zu jeder Zeit negativ bzw. ohne signifikante Hemmung (siehe Tabelle 13b).

3.2.3.4. Aktivität der natürlichen Killer-Zellen

Die spontane Aktivität von NK-Zellen aus der Mäusemilz (Effektorzellen) erwies sich am 1. Tag nach der Behandlung mit Baypen als leicht, nach der Behandlung mit Paraxin als deutlich gegenüber den unbehandelten Kontrollen vermindert. Bei einem Effektor-/Targetzellverhältnis von 1:50 betrug die spezifische Lysis der Targetzellen (YAC-Lymphomzellen) in der Baypen-Gruppe 7,1 %, in der Paraxin-Gruppe 5,2 % und in der Kontrollgruppe 10,1 %.

Am 5. Tag nach der AB-Behandlung überstieg die Aktivität der NK-Zellen aus der Baypen-Gruppe mit 13,9 % Lysis deutlich den Wert von 2,3 % der Kontrollen und blieb auch am 11. Tag mit 3,7 % gegenüber 2,5 % Lysis gegenüber den Kontrollwerten leicht erhöht. Die spontane Aktivität der NK-Zellen aus der Paraxin-Gruppe lag am 5. Tag mit einer Lysis von 3,8 % nur geringgradig über dem Wert der Kontrollgruppe und entsprach am 11. Tag nach der Antibiotikabehandlung mit 2,0 % Lysis dem der Kontrollen (siehe Tabelle 14a). Die spontane Aktivität von NK-Zellen erwies sich am 1., 5. und 11. Tag nach der Behandlung mit Terramycin als leicht, nach der Behandlung mit Refobacin als deutlich gegenüber den unbehandelten Kontrollen erhöht. Bei einem Effektor-/Targetzell-Verhältnis von 50:1 betrug die spezifische Lysis zu diesen Zeitpunkten in der Terramycin-Gruppe 6,0/5,6 und 1,1 %, in der Refo-
bacin-Gruppe 9,2/8,6 und 6,5 % und in der Kontrollgruppe 3,5/4,3 und 0,6 % (siehe Tabelle 14b). Zu allen untersuchten Zeitpunkten war die gleiche Tendenz auch bei den anderen geprüften Effektor-/Targetzell-Verhältnissen abzulesen.

Wurde die Aktivität der NK-Zellen am 1., 5. und 11. Tag nach der Antibiotikabehandlung durch die in vivo Applikation von NDV stimuliert, so erhöhte sich die spezifische Lysis bei einem Zellverhältnis von 50:1 am 1. und 5. Tag nach der Antibiotikabehandlung in der Baypen-Gruppe auf 13,9 und 25,7 % im Vergleich zur Kontrollgruppe mit 9,4 und 17,5 %. Am 11. Tag erreichte der Wert dieser Test-Gruppe mit 13,8 % jedoch nicht mehr den Kontrollwert von 17,6 %. Die Werte der Paraxin-Gruppe lagen am 1. und 11. Tag mit 6,8 bzw. 16,0 % unwesentlich unter den Kontrollwerten und konnten bei Berücksichtigung der Werte aller übrigen Effektor-/Targetzell-Verhältnisse nicht als signifikant angesehen werden. Am 5. Tag nach der AB-Behandlung zeigte sich auch in der Paraxin-Gruppe eine deutliche Erhöhung der

Lysis von 25,9 % gegenüber der Kontrollgruppe. Auch bei allen anderen Effektor-/Targetzell-Verhältnissen bestätigte sich am 5. Tag die erhöhte Stimulierbarkeit in den mit Baypen und Paraxin behandelten Gruppen (siehe Tabelle 15a).

Nach Stimulierung mit NDV am 1., 5. und 11. Tag nach der AB-Behandlung erhöhte sich die spezifische Lysis der NK-Zellen in der Terramycin- und der Kontrollgruppe insgesamt auf ein vergleichbares Niveau. Bei einem Zellverhältnis von 50:1 auf 20,1 / 24,5 und 13,6 % (Terramycin-Gruppe) und auf 18,6 / 23,5 und 10,3 % (Kontrollgruppe).

In der mit Refobacin vorbehandelten Gruppe blieben die Werte mit 17,2 / 16,8 und 12,1 % - besonders unter Berücksichtigung der übrigen Effektor-/Targetzell-Verhältnisse - unter denen der anderen Gruppen (siehe Tabelle 15b).

TABELLE 14 a

Aktivität der natürlichen Killer (NK)-Zellen aus der Mäusemilz nach 7tägiger Antibiotikavorbehandlung

Antibiotika- behandlung	Verhältnis Effektor- ¹⁾ / Targetzellen ²⁾	% spezifische Lysis		
		1. Tag	5. Tag	11. Tag
unbehandelte Kontrollen	50 : 1	10,1	2,3	2,5
	25 : 1	7,1	1,7	1,9
	12,5 : 1	4,3	0,5	1,7
Baypen R (Tagesdosis 5,0 mg)	50 : 1	7,1	13,3	3,7
	25 : 1	5,5	8,0	3,2
	12,5 : 1	3,2	3,7	2,9
Paraxin R (Tagesdosis 1,0 mg)	50 : 1	5,2	3,8	2,0
	25 : 1	3,9	2,5	2,9
	12,5 : 1	-	2,0	1,8

1) Milzzellen

2) YAC-Lymphomzellen

TABELLE 14 b

Aktivität der natürlichen Killer (NK)-Zellen aus der Mäusemilz nach 7tägiger Antibiotikavorbehandlung

Antibiotika- behandlung	Verhältnis Effektor- ¹⁾ / Targetzellen ²⁾	% spezifische Lysis		
		1. Tag	5. Tag	11. Tag
unbehandelte Kontrollen	50 : 1 25 : 1 12,5 : 1	3,5 2,1 3,4	4,3 3,1 1,9	0,6 - -
Terramycin ^R (Tagesdosis 0,5 mg)	50 : 1 25 : 1 12,5 : 1	6,0 4,9 3,9	5,6 4,3 1,9	1,1 1,4 0,1
Refobacin ^R (Tagesdosis 0,125 mg)	50 : 1 25 : 1 12,5 : 1	9,2 7,7 4,5	5,6 2,5 2,7	6,5 5,1 2,3

1) Milzzellen

2) YAC-Lymphomzellen

TABELLE 15 a

Stimulierbarkeit der Aktivität von NK-Zellen aus der Mäusemilz in vivo mittels Newcastle Disease Virus ¹⁾ nach 7tägiger Antibiotikavorbereitung

Vorbereitung der Tiere	Verhältnis 2) Effektor- / Targetzellen	% spezifische Lysis		
		1. Tag	5. Tag	11. Tag
Kontrolle	50 : 1	9,4	17,5	17,6
	25 : 1	6,1	11,9	13,8
	12,5 : 1	5,9	7,2	6,8
Baypen R (Tagesdosis 5,0 mg)	50 : 1	13,9	25,7	13,8
	25 : 1	8,1	17,0	11,2
	12,5 : 1	4,4	9,3	3,2
Paraxin R (Tagesdosis 1,0 mg)	50 : 1	6,8	25,9	16,0
	25 : 1	6,5	18,3	13,0
	12,5 : 1	5,2	9,8	8,2

- 1) ND-Virus, Stamm Hitchner B₁, 0,2 ml i.p. (Titer 10^{8,5} PHE-KID₅₀/ml)
 2) Milzzellen / YAC-Lymphom-Zellen

TABELLE 15 b

Stimulierbarkeit der Aktivität von NK-Zellen aus der Mäusemilz in vivo mittels Newcastle Disease Virus ¹⁾ nach 7tägiger Antibiotikavorbereitung

Vorbereitung der Tiere	Verhältnis 2) Effektor- / Targetzellen	% spezifische Lysis		
		1. Tag	5. Tag	11. Tag
Kontrolle	50 : 1	18,6	23,5	10,3
	25 : 1	15,7	13,1	7,7
	12,5 : 1	10,7	11,7	8,0
Terramycin ^R (Tagesdosis 0,5 mg)	50 : 1	20,1	24,5	13,6
	25 : 1	16,7	14,3	6,5
	12,5 : 1	9,5	11,0	3,4
Refobacin ^R (Tagesdosis 0,125 mg)	50 : 1	17,2	16,8	12,1
	25 : 1	8,6	12,3	6,4
	12,5 : 1	7,4	6,4	2,4

1) ND-Virus, Stamm Hitchner B₁, 0,2 ml i.p. (Titer 10^{8,5} FHE-KID₅₀/ml)

2) Milzzellen / YAC-Lymphom-Zellen

4. DISKUSSION

Auf Grund vorliegender Ergebnisse konnten erstmals neben der Antikörperbildung auch einzelne paraspezifische Parameter des Immunsystems, wie Milzgewicht, Lymphozytenausbeute/Milz, mitogene Stimulierbarkeit der Milzlymphozyten, Interferoninduktion und NK-Zell-Aktivität bezüglich ihrer Beeinflussung durch verschiedene Antibiotika verglichen werden.

Um feststellen zu können, ob eine Beeinflussung der Wirksamkeit von Schutzimpfungen durch eine zeitlich korrelierte Antibiotikabehandlung auch von der Art und Stärke des zur Impfung verwendeten Antigens abhängig ist, wurde der Einfluß aller vier antibiotisch wirksamen Testpräparate an vier Impfmodellen überprüft. Als Beispiel für eine bakterielle Vakzine diente die Impfung mit inaktivierten *Salmonella typhimurium* Keimen, für einen Toxoidimpfstoff inaktiviertes Tetanustoxin, für einen viralen Impfstoff inaktiviertes Influenza A-Virus und für eine virale Lebendvakzine *Vaccinia*-Virus mit den beiden Stämmen Elstree bzw. dem attenuierten Stamm MVA.

Praxisbezogenen Bedingungen entsprach die Behandlungsdauer von 7 Tagen und die Auswahl handelsüblicher Antibiotikapräparate. Die Dosierung orientierte sich an den für die Humanmedizin empfohlenen Höchstdosen/kg Körpergewicht.

Ein Vergleich der Antikörpertiter läßt erkennen, daß die beiden bakteriostatisch wirksamen Präparate Terramycin^R (Tetracyclin) und Paraxin^R (Chloramphenicol) keine suppressive Wirkung auf die AK-Bildung ausübten, wenn sie in einem Impfmodell im Versuchstier Maus getestet wurden. Dabei war es gleichgültig, zu welchem Zeitpunkt sie appliziert wurden, gleichgültig, ob zur Vakzination ein starkes oder schwaches Antigen eingesetzt und ebenso gleichgültig, welche Impfstoffart

(Toxoid, bakterielle oder virale Vakzine) verwendet wurde. Auch VOICULESCU (101, 102) fand bei Applikation von Chloramphenicol, trotz einer signifikanten Hemmung der T-Lymphozytenproliferation bei der Maus, keinen Hinweis auf eine verminderte humorale Immunantwort. Eine Tetracyclinbehandlung der Maus führte bei THONG (97) zu keiner Abschwächung der Antikörpersynthese gegenüber Schafererythrozyten als Antigen. Bei TU (99) hemmten nur hohe Tetracyclindosen, gleichzeitig zu einem bakteriellen Antigen verabreicht, die Ausbildung humoraler Antikörper bei der Maus.

Ganz im Gegenteil konnte in den vorliegenden Untersuchungen mit beiden Präparaten in fast allen Mäusemodellen unabhängig vom Zeitpunkt der Applikation eine Stimulierung der Antikörperbildung beobachtet werden.

Auch bei den beiden untersuchten Präparaten (Baypen^R, Refobacin^R) aus der Gruppe der bakterizid wirkenden Antibiotika zeichnen sich überwiegend Gemeinsamkeiten, daneben aber auch unterschiedliche Einflüsse ab. Beide Präparate ließen einen suppressiven Einfluß auf die AK-Bildung nach der Vakzination mit Vacciniavirus, Stamm Elstree sowie 2 Lf Tetanustoxoid erkennen. Dieser Einfluß war bei Elstree unabhängig, bei 2 Lf Tetanustoxoid abhängig vom Zeitpunkt der Antibiotikabehandlung. NAVASARDYAN (73) beschrieb beim Schaf ebenfalls eine Verminderung der AK-Proliferation nach 7tägiger Penicillinbehandlung und Vakzination mit Brucella-Antigen. Die Begünstigung der AK-Bildung durch Baypen^R und Refobacin^R nach der Impfung mit Vacciniavirus, Stamm MVA sowie mit S.typhimurium war zeitunabhängig. Eine Stimulierung der Antikörperproliferation nach Anwendung eines anderen Betalactam-Antibiotikums, dem Cefodizime, gelang auch GILLISSEN (32) bei Balb/c Mäusen. Innerhalb eines bestimmten Dosisbereichs förderte dieses Präparat die Antikörpersynthese gegen SRBC (sheep red blood cells).

Neben diesen Gegebenheiten ist äußerst interessant, daß im Gegensatz zur Maus im Kaninchen gerade die beiden bakteriostatisch wirksamen Präparate - abhängig vom Applikationszeitpunkt - eine negative Wirkung auf die AK-Bildung ausübten, die in keinem der Mäusemodelle suppressiv gewirkt hatten. So wurde durch Terramycin^R die AK-Bildung gegen alle eingesetzten Impfstämme herabgesetzt bzw. verzögert, wenn es vor der Antigengabe verabreicht wurde. Paraxin^R supprimierte die AK-Bildung gegen die beiden Impfstämme A/equi 2, wenn es nach der Impfung appliziert wurde.

Umgekehrt konnte eine sehr starke Stimulierung der AK-Bildung gegen alle Influenza A-Impfstoffe ausschließlich durch das bakterizid wirkende Refobacin^R (unabhängig vom Zeitpunkt der Applikation) beobachtet werden. Durch das ebenfalls bakterizid wirkende Baypen^R blieb die AK-Bildung unbeeinflusst.

Daß diese "inverse" Reaktion der Antibiotika in diesem Impfmodell auf besondere Interaktionen mit gerade diesem - in der Maus nicht getesteten - Impfstoff aus inaktiviertem Virus zurückzuführen ist, kann theoretisch nicht ausgeschlossen werden, erscheint aber im Zusammenhang mit allen übrigen Ergebnissen als höchst unwahrscheinlich.

Viel mehr deuten die Ergebnisse auf eine speziebedingte unterschiedliche Wirkungsweise der Antibiotika hin. Ebenfalls anscheinend speziebedingte Unterschiede treten bei dem Zytostatikum Endoxan^R (Cyclophosphamid) auf, das in Parallelversuchen als Kontrolle in den Modellen Pferdeinfluenza/Kaninchen und Tetanus/Maus getestet wurde. Als alkylierend wirkt es spezifisch auf die DNA-Synthese und somit auf proliferierende Lymphozyten. Eine besonders deutliche Suppression der AK-Bildung läßt sich 12 bis 48 Stunden nach der Antigengabe (9,28,46,78,83) und nach hohen Cyclophosphamid-dosen (50-60 mg/kg) erzielen (39). Dem entsprechend war im Mäusemodell die AK-Bildung nach einer Impfdosis von 2 Lf Tetanustoxoid vollständig, nach 4 Lf weitgehend

unterdrückt, wenn die zytostatische Behandlung im Anschluß an die Impfung erfolgte. Eine Behandlung vor der Impfung blieb ohne Einfluß auf die AK-Bildung. In allen Fällen wurde das Allgemeinbefinden der Tiere nicht beeinträchtigt. Im Kaninchen kam es dagegen nur zu einer leichten Verzögerung der AK-Bildung gegen A/equi 1 bei Endoxanbehandlung nach der Impfung. Ansonsten blieb die AK-Bildung unbeeinflusst. Bei nahezu allen mit Endoxan behandelten Tieren konnte aber ein stark reduziertes Allgemeinbefinden mit Appetitlosigkeit, hochgradiger Kachexie und Alopezie beobachtet werden. Da für das Kaninchen nicht so viele Daten zur Verfügung stehen wie beim "klassischen" Versuchstier Maus, kann die Deutung dieser Beobachtung nur rein spekulativ sein. So kämen folgende Möglichkeiten als Ursache für die unterschiedliche Beeinflussung der AK-Bildung sowie die ungleiche Allgemeinreaktion der beiden Spezies in Betracht:

- ungleiche Empfindlichkeit der jeweiligen Zellsysteme gegenüber dem Pharmakon und damit verschiedene Angriffspunkte,
- tierartlich unterschiedliche Metabolisierung des jeweiligen Pharmakons,
- unterschiedliche Angriffspunkte der verschiedenen Metaboliten.

Die unterschiedliche Metabolisierung der einzelnen Präparate kann eine Freisetzung neuer reaktionsfähiger Strukturbausteine zur Folge haben, die möglicherweise eine immunmodulierende Aktivität auf das Abwehrsystem oder Teile davon ausüben, indem sie mit einer bestimmten somatischen Zellart reagieren und daher sowohl immunpotenzierende als auch immunsupprimierende Effekte erzeugen (17, 22). Außerdem ist bekannt, daß z.B. die spontane NK-Zellaktivität durch Alter, Gewicht, Geschlecht und genetische Determination (BARTLETT (4):

Unterschiede zwischen Balb/c und NMRI-Maus) sogar innerhalb einer Spezies positiv oder negativ beeinflußt werden kann (13, 44).

Die vorliegenden Ergebnisse über die Wirkung von Antibiotika auf Parameter des paraspezifischen Anteils des Immunsystems der Maus beweisen, daß alle vier antibiotisch wirksamen Testpräparate grundsätzlich die gleichen zellulären Parameter beeinflussen: mindestens zu einem Untersuchungszeitpunkt erwies sich die Aktivität der NK-Zellen als erhöht, Milzgewicht, Lymphozytenausbeute/Milz und mitogene Stimulierbarkeit der Milzlymphozyten als supprimiert. Eine Stimulierung der letztgenannten Parameter war ausschließlich nach vorangegangener Suppression zu beobachten und dürfte somit als Gegenreaktion des Organismus auf den suppressiven Einfluß der Antibiotika bewertet werden. Die Interferoninduktion durch ND-Virus wurde dagegen von keinem der Testpräparate beeinflußt.

Unterschiede in der Wirkung der verschiedenen Antibiotika traten in quantitativer Hinsicht auf. So waren nach der Behandlung mit Baypen^R und Refobacin^R Milzgewicht, Lymphozytenausbeute/Milz und mitogene Stimulierbarkeit der Milzlymphozyten deutlich supprimiert und die Aktivität der NK-Zellen stark erhöht. Zum Teil ähnliche Resultate erzielte ROSZKOWSKI et al. (82) nach einer 7tägigen Behandlung von Mäusen mit Mezlocillin. Dieses Antibiotikum führte ebenfalls zu einem stark reduzierten Milzgewicht und einer verminderten proliferativen Aktivität der mit ConA und LPS stimulierten Milzlymphozyten.

Die Einflüsse von Paraxin^R und Terramycin^R auf diese paraspezifischen Parameter waren wesentlich schwächer ausgeprägt. Eine Korrelation zwischen dem Ausmaß der Erhöhung der NK-Zellaktivität und der Stärke der Sup-

pression der anderen zellulären Parameter ließ sich jedoch in allen Testansätzen nachweisen. Hierdurch wird die Hypothese gestützt, daß die erhöhte Lysis von Targetzellen durch die als Effektorzellen eingesetzten Milzzellen der mit Antibiotika behandelten Tiere nur scheinbar auf eine Steigerung der Aktivität der NK-Zellen zurückzuführen ist. Vielmehr ist anzunehmen, daß die erhöhte Lysis der Targetzellen durch eine relative Erhöhung des Anteils von NK-Zellen an der Gesamtpopulation der Milzzellen nach Suppression anderer Subpopulationen bedingt ist. Im Lymphozytentransformationstest war nach Terramycinapplikation die mitogene Stimulierbarkeit der T-Lymphozyten zu keinem Zeitpunkt, die der B-Zellen aber am 1. Tag nach der Behandlung der Tiere deutlich herabgesetzt. Untersuchungen von YOUNG (107) bestätigen ebenfalls die Hemmung besonders der B-Zellproliferation nach Tetracyclinbehandlung der Maus. Nach Refobacin^R erwies sich die Stimulierbarkeit der T-Lymphozyten nur am 1. Tag, die der B-Lymphozyten bis zum 5. Tag nicht nur langfristiger, sondern auch stärker reduziert.

Diese Ergebnisse entsprechen qualitativ der durch Proliferationshemmung bedingten Wirkung bekannter chemischer Immunsuppressiva und ionisierender Strahlen (86).

Dagegen stellt die größere Empfindlichkeit der T-Lymphozyten, die nach der Behandlung mit dem bakterizid wirkenden Baypen^R überraschenderweise festgestellt wurde, eine Ausnahme dar. Sie könnte durch die von anderen Antibiotikagruppen abweichende antibakterielle Wirkungsweise der Penicilline bedingt sein. Während die Präparate der anderen Wirkstoffgruppen durch Hemmung der Proteinsynthese nicht nur an bakteriellen Ribosomen angreifen, sondern auch in den Zellen des Makroorganismus zu einer Proliferationshemmung führen können, ist die antibakterielle Wirkungsweise der Penicilline als

Vertreter der Betalactam-Antibiotika durch einen Eingriff in die Biosynthese der bakteriellen Mureinzellwand bedingt. Diese Wirkung galt lange Zeit als selektiv (3, 14, 29, 81). Berichte über Einflüsse dieser Antibiotikagruppe auf Zellen des Makroorganismus sind bisher widersprüchlich und die zugrunde liegenden Mechanismen weitgehend ungeklärt. Abgesehen von diesen schwer einzuordnenden Ergebnissen über die unterschiedliche Empfindlichkeit der B- und T-Lymphozyten fällt anhand der oben beschriebenen quantitativ unterschiedlichen Wirkung der Präparate auch bei diesen Untersuchungen wieder eine eindeutige Gruppierung auf. Die beiden bakterizid wirkenden Präparate Baypen^R und Refobacin^R beeinflussen relativ stark (negativ wie positiv) die zellulären Parameter der paraspezifischen Abwehr, beide bakteriostatisch wirksamen Präparate dagegen wesentlich geringer. Bezüglich der Antikörperbildung in der Maus bestanden ähnliche Zuordnungen. Bei den beiden bakteriostatisch wirksamen Antibiotika waren die zellulären Parameter des paraspezifischen Anteils des Immunsystems nur geringfügig, die AK-Bildung sogar in keinem Modell supprimiert. Durch beide bakterizid wirksamen Präparate wurden die gleichen paraspezifischen Parameter deutlich beeinflusst, die AK-Bildung erwies sich in zwei der Impfmodelle als herabgesetzt bzw. verzögert.

Trotz dieser möglichen Zuordnung bleiben weitere Fragen offen. So ist z.B. hierdurch nicht zu erklären, warum die beiden bakterizid wirkenden Präparate Baypen^R und Refobacin^R die AK-Bildung in zwei Impfmodellen negativ, in den anderen Modellen jedoch nicht beeinflussten bzw. sogar begünstigten. Die unterschiedliche Wirkung ein und desselben Präparates in dem gleichen Versuchstier kann zwangsläufig nur durch die Variable "Impfantigen" bedingt sein. Hiermit liegt die Vermutung nahe, daß in diesem Zusammenhang die paraspezifische Wirkung des zur Vakzination verwendeten Antigens (und/oder möglicher Adjuvantien) eine Rolle spielt (59, 63, 67).

- Besitzt der Impfstoff keine oder nur eine geringe paraspezifische Wirkung, so kann sich die durch das Antibiotikum bewirkte Suppression unspezifischer Abwehrmechanismen durchsetzen und die AK-Bildung negativ beeinflussen.
- Verfügt der Impfstoff über gute paramunisierende Eigenschaften, so kann die suppressive Wirkung der Antibiotika kompensiert werden und die AK-Bildung bleibt unbeeinflusst.
- Bei Begünstigung der AK-Bildung könnte, zumindest in der Gruppe der bakteriostatischen Präparate, auch die (relative?) Erhöhung der kurzfristig schwach supprimierten unspezifischen Parameter eine Rolle spielen.

Der festgestellte suppressive Einfluß der geprüften Antibiotika auf zelluläre Parameter des Abwehrsystems war insgesamt relativ gering und vor allem so kurzfristig wirksam, daß drastische Rückwirkungen auf die Wirksamkeit von Schutzimpfungen nicht beobachtet werden konnten. Daß es nach der Vakzination mit vermehrungsfähigen Erregern zu keiner Provokation einer Virusvermehrung in Organen der Maus durch eine Antibiotikabehandlung kam, beweist, daß vor dem Einsetzen der erregerspezifischen Abwehr genügend erregerspezifische Mechanismen intakt und aktivierbar sind, um die Vermehrung des Erregers an einem anderen Ort als dem der Eintrittspforte zu verhindern. Im Gegensatz dazu bewirkte eine Ganzkörperbestrahlung der Maus mit ionisierenden Strahlen eine drastische Virulenzsteigerung mit nachweisbarer Virusvermehrung in primär affinen Organen nach Infektion mit Vaccinia-Virus, Stamm Elstree (60, 61, 79). Der attenuierte Vaccinia-stamm MVA blieb auch im extrem immunsupprimierten Organismus avirulent (48, 92).

Diese erstmals in größerem Rahmen durchgeführten Untersuchungen über Einflüsse von Antibiotika (nach in vivo-Applikation in gebräuchlichen therapeutischen Höchstdosen) auf antigenspezifische wie paraspezifische Abwehrmechanismen weisen sehr nachhaltig darauf hin, daß Einzelergebnisse über suppressive Wirkungen aus reinen in vitro-Modellen durch z.T. für die Praxis nicht relevant hohe Dosen nicht überbewertet werden dürfen.

In keinem der überprüften Modelle wurde die Antikörperbildung nach einer Schutzimpfung durch die relativ kurzfristige Suppression einzelner Parameter des erregerspezifischen Anteils des Immunsystems durch eine Antibiotikabehandlung "drastisch" erniedrigt oder verzögert. In der überwiegenden Zahl der Untersuchungen wurde sie sogar begünstigt oder blieb zumindest unbeeinflusst. Deshalb sollte die generelle Bezeichnung "immunsuppressiv" für Antibiotika nicht mehr uneingeschränkt verwendet werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Vier repräsentative Antibiotikagruppen (Betalactam-Antibiotika - Baypen^R; Aminoglycoside - Refobacin^R; Tetracycline - Terramycin^R; Chloramphenicol - Paraxin^R) wurden vergleichend bezüglich Rückwirkung auf folgende Parameter des Immunsystems untersucht:

1. Antikörperbildung,
2. Milzgewicht und Lymphozytenausbeute/Milz,
3. mitogene Stimulierbarkeit der Milzlymphozyten,
4. Induktion von Interferon,
5. NK-Zellaktivität

In Hinsicht auf die Beeinflussung der Antikörperbildung bestätigten die Ergebnisse die Erfahrungen der Praxis, wonach Schutzimpfungen durch eine vorausgehende oder gleichzeitig vorgenommene Antibiotikabehandlung kaum beeinflusst werden. Je nach Antibiotikapräparat, Tierspezies und Impfstoffart kam es zwar zu einer Stimulierung bzw. Supprimierung der Antikörperbildung, die Schutzwirkung der Impfung blieb aber erhalten.

Die bakteriostatischen Präparate Paraxin^R und Terramycin^R stimulierten z.B. in der Maus generell die Antikörperbildung, im Kaninchen verhielten sie sich dagegen eher neutral bzw. supprimierend. Eine Beeinflussung der Virusvermehrung durch eine Antibiotikabehandlung nach Impfung mit Lebendimpfstoffen ließ sich nicht nachweisen.

Auf die paraspezifischen Aktivitäten des Immunsystems wirkte sich eine Antibiotikabehandlung relativ einheitlich aus. Die Interferonbildung blieb unbeeinflusst. Die NK-Aktivität wurde leicht erhöht. Milzgewicht, Lymphozytenausbeute/Milz und mitogene Stimulierbarkeit der Milzlymphozyten wurden zuerst supprimiert (negative Phase) und später stimuliert. Die

Beeinflussung obiger Parameter betreffend, waren die bakteriziden Antibiotika Baypen^R und Refobacin^R den bakteriostatisch wirkenden Antibiotika quantitativ überlegen.

Die generelle Bezeichnung "immunsuppressiv" sollte für Antibiotika nicht mehr verwendet werden. Jedes Antibiotikum beeinflusst bestimmte Aktivitäten des spezifischen wie paraspezifischen Anteils des Immunsystems in Abhängigkeit von der Wirtsspezies unterschiedlich, jedoch stets relativ gering.

Die Charakterisierung eines Antibiotikums hinsichtlich seiner Auswirkungen auf das Immunsystem sollte deshalb nur auf die einzelnen Parameter des Immunsystems bezogen werden.

6. SUMMARY

Influence on the immune system by antibiotics

Four representative groups of antibiotics (betalactam-antibiotics - Baypen^R; aminoglycoside - Refobacin^R; tetracycline - Terramycin^R; chloramphenicol - Paraxin^R) were compared in investigations with regard to their influence on the following parameters:

1. antibody formation,
2. spleen weight and lymphocyte yield from spleen,
3. mitogenic stimulation of spleen lymphocytes,
4. induction of interferon,
5. NK-cells activity.

As regards the influence on antibody formation, the results verified practical experience that vaccinations are not affected by preceding or simultaneous treatment with antibiotics. Antibody formation was stimulated or suppressed, depending on the type of antibiotic preparation, species of animal and type of vaccine used, but the protective effect of the vaccination was preserved.

In general, bacteriostatic preparations such as Paraxin^R and Terramycin^R stimulated antibody formation in mice, but in rabbits they had a more neutral, and suppressive effect. No influence on virus multiplication after vaccination with live germs could be established.

Antibiotic treatments had relatively homogenous effects on the paraspecific activities of the immune system. Induction of interferon remained stable and natural killer cell activity was increased. Spleen weight, lymphocyte yield from spleen and mitogenic stimulation of spleen lymphocytes were at first suppressed and later on stimulated. Quantitatively speaking, the influence of bactericide antibiotics

such as Baypen^R and Refobacin^R on the above parameters was higher than that of antibiotics with a bakteriostatic effect.

The general term "immunosuppressive" should no longer be used for antibiotics. Each antibiotic preparation influences certain activities of both the specific and paraspecific mechanisms of the immune system in a different way, depending on the species treated, but always in a relatively low degree.

Characterization of antibiotics with regard to their effects on the immune system, therefore, should only be related to single parameters of the immune system.

8. Blaich, W.,
(1954) Wirkung der Antibiotika, insbesondere des Penicillins, auf das vegetative Nervensystem und das Endokrinum.
Antibiot. et Chemother. (Basel), 1, 276.

9. Braun, D.P.,
Harris, J.E.,
(1985) Modulation of the immune response by chemotherapy.
In: The Modulation of Immunity.
ed by: M.S. Mitchell
Int. Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics sect., 115, 359.

10. Büttner, M.,
(1984) Spontane zellvermittelte Zytotoxizität.
Tierärztl. Umschau, 39, 214.

11. Burgaleta, C.,
Martinez-Beltran, J.,
Bouza, E.,
(1982) Comparative effects of moxalactam and gentamicin on human polymorphonuclear function.
Antimicrob. Agents Chemother., 21, 718.

12. Chaperon, E.A.,
Sanders, W.E.,
(1978) Suppression of lymphocyte responses by cephalosporins.
Infect. Immun., 19, 378.

13. Cudkiewicz, G.,
Hochman, P.S.,
(1979) Do natural killer cells engage in regulated reactions against self to ensure homeostasis?
Immunol. Rev., 44, 13.

14. Dam, W.C.,
Malkinson, F.D.,
(1975) The effect of common antibiotics on lymphocyte transformation.
Experientia, 31, 375.

15. Da Mert, G.J.,
Sohnle, P.G.,
(1979) Effect of chloramphenicol on in vitro function of lymphocytes.
J. Infect. Dis., 139, 220.

16. Daniel, T.M.,
Suhrland, L.G.,
Weisberger, A.S.,
(1965)

Suppression of the anamnestic response
to tetanus toxoid in man by chlor-
amphenicol.
N.Engl.J.Med., 173, 367.

17. Drews, J.,
(1984)

Immunostimulation: Clinical and experi-
mental perspectives.
Klin.Wschr., 62, 254.

18. Dunlop, D.M.,
(1960)

The danger of antibiotic treatment.
Brit.med.Bull., 16, 67.

19. Farhi, A.,
(1959)

Contribution a l'étude de l'action des
antibiotiques sur l'immunité.
Ann.Inst.Pasteur, 97, 7.

20. Ferrari, F.A.,
Pagani, A.,
Marconi, M.,
(1980)

Inhibition of candidacidal activity of
human neutrophil leukocytes by amino-
glycoside antibiotics.
Antimicrob.Agents Chemother., 17, 87.

21. Fey, H.,
Stiffler-
Rosenberg, G.,
(1977)

Messung von Tetanus-Antitoxin beim
Pferd mit dem ELISA.
Schweiz.Arch.Tierhk., 119 (11), 427.

22. Finger, H.,
Wirsing
v.König, C.H.,
(1986)

Suppression and enhancement of immune
responses by bacteria, bacteria
products and extracts.
In: Enhancement and suppression of immune
responses by microorganisms.
ed by: W. Tschiesche
Fischer Verlag, Jena (in Vorber.).

23. Forsgren, A.,
Schmeling, D.,
Quie, P.G.,
(1974)

Effect of tetracycline on the phagocy-
tic function of human leukocytes.
J.Infect.Dis., 130, 412.

24. Forsgren, A., Effect of antibiotics on chemotaxis
Schmeling, D., of human leukocytes.
(1977) Antimicrob.Agents Chemother., 11, 580.
25. Forsgren, A., Influence of antibiotics on lymphocyte
Banck, G., function in vitro.
(1978) Infection, 6 (Suppl.1), 91.
26. Forsgren, A., Antibiotic-host defence interactions
Banck, G., in vitro and in vivo.
Beckman, H., Scand.J.Infect.Dis., 24, 195.
Bellahsène, A., (1980)
27. Friemel, H., Immunologische Arbeitsmethoden.
(1980) Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
28. Frisch, A.W., Inhibition of haemagglutinin synthesis
Davies, G.H., by cytoxan.
(1965) Cancer Res., 25, 745.
29. Fülgraf, G., Pharmakotherapie und klinische
(1984) Pharmakologie.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
30. Gillissen, G.J., Antibiotika und Immunantwort,
(1980) Begleiteffekt der Chemotherapie.
Imm.Infekt., 8, 79.
31. Gillissen, G.J., Influence of cephalosporines on
(1982) humoral immune response.
In: The Influence of Antibiotics on
the Host-Parasite Relationship,
ed. by Eickenberg, Hahn, Opferkuch,
Springer, Heidelberg, 112.

40. Hauser, W.E., Effect of antibiotics on the immune
Remington, J.R., response.
M.D. u. J.S., Amer.J.Med., 72 (5), 711.
(1982)
41. Hauser, W.E., Effect of antibiotics in the humoral
Remington, J.S., and cell-mediated immune response.
(1982) In: Action of antibiotics in patients.
ed by: L.D. Sabath, Hans Huber, Bern, 289.
42. Heck, F.J., Einflüsse auf die Verringerung der
(1959) Leukozyten.
Chem.Zbl., 130, 3876.
43. Henneberg, G., Immunisatorische Auswirkungen der
(1963) Chemotherapie.
ed by: H.P. Kümmerle.
III.Intern.Kongreß f.Chemotherapie, 333.
44. Herberman, R.B., Immunoregulation and natural killer cells.
(1982) In: Regulation of the immune response.
8th Int.Convoc.Immunol., Amherst, N.Y.,38.
(Karger, Basel).
45. Herrlich, A., Die Pockenschutzimpfung
Ehregut, W., In: Handbuch der Schutzimpfungen.
Mayr, A., ed by: A. Herrlich,
Munz, E., Springer Verlag, 66.
Schleussing, H.,
(1965)
46. Hersh, E.M., Recovery of immune responsiveness after
Carbone, P.P., drug suppression in man.
Freireich, E.J., J.Lab.Clin.Med., 67, 566.
(1966)

47. Hillebrecht, B.,
(1980) Die Einwirkung von Antibiotika auf die Bildung humoraler Antikörper der Maus. Paul Ehrlich-Institut, Heft 74, 35.
48. Hochstein-
Mintzel, V.,
Huber, H.Ch.,
Stickl, H.,
(1972) Virulenz und Immunogenität eines modifizierten Vaccinia-Virus, Stamm MVA. Z.Immun.-Forsch., 144, 140.
49. Jakoniuk, P.,
Wlodzimierz, B.,
(1978) Effect of chloramphenicol on the activity of mouse phagocytic cells against *Candida albicans*. Med.Dosw.Mikrobiol., 30 (4), 285.
50. Kärber, G.,
(1931) Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche. Arch.exp.Path.Pharmak., 162, 480.
51. Khan, A.J.,
Evans, H.E.,
Glass, L.,
Chang, C.T.,
Nair, S.R.,
(1979) Abnormal neutrophil chemotaxis and random migration induced by aminoglycoside antibiotics. J.Lab.clin.Med., 93, 295.
52. Li, S.Y.,
Nelson, D.S.,
(1986) Acetylspiramycin and the immune system. II.Effects on lymphocyte proliferation, lymphokine production, delayed-type hypersensitivity and antibody production. Int.J.Immunopharmacol., 8 (6), 657.
53. Majeski, J.A.,
Alexander, J.W.,
(1977) Evaluation of tetracycline in the neutrophil chemotactic response. J.Lab.clin.Med., 90, 259.

54. Martin, R.R., Effects of tetracycline on leukotaxis.
Warr, G.A., J.Infect.Dis., 129, 110.
Couch, R.B.,
Yeager, H.,
Knight, V.,
(1974)
55. Mayr, A., Veränderungen von Vaccinevirus durch
Munz, E., Dauerpassagen in Hühnerembryo-
(1964) fibroblastenkulturen.
Zbl.Bakt., I.Abt.Orig., 195, 24.
56. Mayr, A., Abstammung, Eigenschaften und Ver-
Hochstein- wendung des attenuierten Vaccinia-
Mintzel, V., Stammes MVA.
Stickl, H., Infektion, 3 (1), 6.
(1975)
57. Mayr, A., TC-Marker des attenuierten Vaccinia-
(1976) Impfstammes "MVA" in menschlichen
Zellkulturen.
Zbl.Vet.-Med.B, 23, 417.
58. Mayr, A., Virologische Arbeitsmethoden Bd. II.
Bachmann, P.A., Verlag G. Fischer, Stuttgart.
Bibrack, B.,
Wittmann, G.,
(1977)
59. Mayr, A., Prämunität, Prämunisierung und para-
(1978) spezifische Wirkungen von Schutz-
impfungen.
Münch.med.Wschr., 120, 239.

60. Mayr, A.,
Danner, K.,
(1978) Vaccination against pox diseases under
immunosuppressive conditions.
15th IABS Congress: Vaccinations in the
Developing countries, La Guadeloupe 1978.
Develop.biol.Standard., Vol.41, 225.
61. Mayr, A.,
Stickl, H.,
Müller, H.K.,
Danner, K.,
Singer, H.,
(1978) Der Pockenimpfstamm MVA: Marker, gene-
tische Struktur, Erfahrungen mit der
parenteralen Schutzimpfung und Ver-
halten im abwehrgeschwächten
Organismus.
Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 167, 375.
62. Mayr, A.,
Raettig, A.,
Stickl, H.,
(1979) Paramunität, Paramunisierung,
Paramunitätsinducer (Teil 1).
Fortschr.Med., 25, 1159.
63. Mayr, A.,
Baljer, G.,
Büttner, M.,
(1980) Aktive Schutzimpfung mit heterologen
Impfstoffen.
Sonderdruck, Tierärztl.Umschau, 35, 560.
64. Mayr, A.,
(1982) Wissenschaftliche Entwicklung auf dem
Gebiete der medikamentellen Steigerung
der nichtantigenspezifischen, körperl-
eigenen Abwehr.
Tierärztl.Prax., 10, 451.
65. Mayr, A.,
(1982) Paramunität und Paramunisierung.
Zbl.Vet.Med. B, 29, 5.
66. Mayr, A.,
Mayr-Bibrack, B.,
(1983) Grundlagen der unspezifischen und
spezifischen Abwehr gegen
Infektionskrankheiten.
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr., 96, 157.

67. Mayr, A.,
Eissner, G.,
Mayr-Bibrack, B.,
(1984)
Handbuch der Schutzimpfungen in
der Tiermedizin.
Paul Parey Verlag, Berlin.
68. Melby, K.,
Midtvedt, T.,
(1980)
Effects of some antibacterial agents
on the phagocytosis of ^{32}P -labelled
Escherichia coli by human polymorpho-
nuclear cells.
Acta path.microbiol.scand. B, 88, 103.
69. Milatovic, D.,
Braveny, I.,
(1982)
Wechselwirkungen zwischen Antibiotika
und Phagozytose.
Dtsch.med.Wschr., 107, 1975.
70. Mosonyi, L.,
(1958)
Die Wirkung der Antibiotika auf Zellen.
Antibiotika et Chemotherapia
(Basel), 5, 230.
71. Munoz, J.,
Geister, R.,
(1950)
Inhibition of phagocytosis by
aureomycin.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 75, 367.
72. Munster, A.M.,
Loadholdt, C.B.,
Leary, A.G.,
Barnes, M.A.,
(1977)
The effect of antibiotics on cell-
mediated immunity.
Surgery, 81, 692.
73. Navasardyan, A.A.,
Stepanyan, L.A.,
(1976)
Effect of the combined use of penicillin
and streptomycin on the development of
post-vaccination antibodies.
Izv.S-Kh Nauk, 19, 89.

74. Nemteanu, S.,
Nedelciu, D.,
Popa, E.,
(1972) Influence of chlortetracycline on
active immunity to Newcastle disease.
Arch.Veterinaria, 8, 53.
75. Patocka, F.J.,
Kubelka, C.V.,
Korb, J.,
(1960) Versuchsweise Beeinflussung der
Antikörperbildung durch Tetracyklin.
Ldw.Zbl.Abt.Vet.-med., 6, II, 2155.
76. Patocka, F.,
John, C.,
Spratkova, J.,
Sestakova, V.,
(1972) Inhibition of antibody formation by
tetracycline on the cellular level.
Advan.Antimicrob.Antineoplastic
Chemother., Proc.Int.Congr.Chemother.,
7th, Meeting Date 1971, Volume 1.
Issue 1, 193-6. ed by: Hejzlar, M.,
Univ.Paris Press., Baltimore, Md.
77. Pisciotta, A.V.,
De Prey, C.,
(1967) Inhibition of mitosis by chloramphenicol
on phytohaemagglutinin stimulated
lymphocytes.
Blood, 30, 457.
78. Potel, J.,
(1963) Einfluß von Cytostatika auf die Anti-
körperbildung.
ed by: H.P. Kümmerle.
III.Intern.Kongreß f. Chemotherapie, 1639.
79. Prasad, C.B.,
Hedström, K.-G.,
(1974) Study on experimental vaccinia virus
infection in mice with special refer-
ence to host defence mechanisms.
Z.Immun.-Forsch., 148, 97.
80. Rich, M.L.,
Ritterhof, R.J.,
Hoffmann, R.J.,
(1950) A fatal case of aplastic anaemia
following chloramphenicol therapy.
Ann.Intern.Med., 33, 1459.

81. Rolle, M.,
Mayr, A.,
(1984) Medizinische Mikrobiologie, Infek-
tions- und Seuchenlehre.
Enke Verlag.
82. Roszkowski, W.,
Ko, H.L.,
Roszkowski, K.,
Jeljaszewicz, J.,
Pulverer, G.,
(1985) Effect of selected antibiotics on
the cellular and humoral immune
response in mice.
Zbl.Bakt.Suppl., 13, 78.
83. Salaman, J.R.,
(1981) Pharmacological immunosuppressive
agents.
In: Immunosuppressive Therapy
ed by: J.R. Salaman, 11, MTP.
84. Schmidberger, K.,
(1983) Experimentelle Untersuchungen über die
lokalen Immunisierungsvorgänge im Dün-
n-
darm von Kälbern nach oraler Immuni-
sierung gegen Salmonella typhimurium.
Vet.Med.Diss., München.
85. Seklecki, M.M.,
Quintiliani, R.,
Maderazo, E.G.,
(1978) Aminoglycoside antibiotics moderately
impair granulocyte function.
Antimicrob.Agents Chemother., 13, 552.
86. Sell, St.,
(1977) Immunologie, Immunpathologie und
Immunität.
Verlag Chemie.
87. Siefert, G.,
Günther, B.,
May, D.,
(1971) Immunsuppressive Wirkung gebräuchlicher
Antibiotika.
Arznei.Forsch., 21, 2109.

88. Siegel, J.P.,
Remington, J.S.,
(1982) Effects of antimicrobial agents on chemiluminescence of human polymorphonuclear leukocytes in response to phagocytosis.
J.Antimicrob.Chemother., 10, 505.
89. Singer, H.,
(1978) Einfluß einer Immunsuppression auf eine experimentelle Pockeninfektion mit verschiedenen Vaccinia-Stämmen.
Vet.Med.Diss., München.
90. Slavcheva, E.,
(1976) Tetracycline and primary immune response.
Antibiotiki (Moscow), 21 (1), 75.
91. Spearman, C.,
Kaerber, G.,
(1968) Wertmessung biologisch wirksamer Substanzen auf Grund alternativer Dosis-Wirkungs-Kurven.
In: Statistische Auswertungsmethoden. ed by: L.Sachs.
Verlag A.Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 225.
92. Stickl, H.,
Hochstein-
Mintzel, V.,
Mayr, A.,
Huber, H.Chr.,
Schäfer, H.,
Holzner, A.,
(1974) MVA-Stufenimpfung gegen Pocken.
Dtsch.med.Wschr., 47, 2386.
93. Stiffler-
Rosenberg, G.,
Fey, H.,
(1977) Messung von Tetanus-Antitoxin mit dem Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
Schweiz.med.Wschr., 107, 1101.

94. Ssumarokow, A.A.,
(1956) Der Einfluß von Medinal auf die Anti-
körperbildung und den Komplementgehalt
im Blut von Versuchstieren während
der Vaccinierungsperiode.
Journ.Microbiol.Epidemiol.Immunobiol.
(russ.), 1955.
Chem.Zbl., 127, 8155.
95. Terzian, L.A.,
Stahler, N.,
Miller, H.,
(1953) A study of the relation of antibiotics,
vitamins and hormones to immunity to
infection.
J.Immunol., 70, 115.
96. Thong, Y.H.,
Ferrante, A.,
(1979) Inhibition of mitogen-induced human
lymphocyte proliferative responses
by tetracycline analogues.
Clin.Exper.Immunol., 35, 443.
97. Thong, Y.H.,
Ferrante, A.,
(1980) Effect of tetracycline treatment on
immunological responses in mice.
Clin.Exper.Immunol., 39 (3), 728.
98. Thorn, R.M.,
Palmer, J.C.,
Manson, L.A.,
(1974) A simplified 51-Cr-release assay
for killer cells.
J.Immunol.Methods, 4, 301.
99. Tu, Tran Dinh,
(1980) Effects of antibiotics on the immune
system of animals. II. Mouse experi-
ments with an inactivated adsorbed
vaccine against swine erysipelas.
Acta Vet.Acad.Sci.Hung., 28 (3), 309.
100. Tu, Tran Dinh,
(1981) Effect of antibiotics on the develop-
ment of immune response in the
organism of animals.
Acta Vet.Acad.Sci.Hung., 29 (2), 127.

108. Zinzius, J.,
(1954)

Die Antibiotika und ihre
Schattenseiten.
Hippokrates Verlag, Stuttgart.

Herrn Professor Dr. Dr. h.c. mult. A. Mayr möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und die Betreuung bei der Bearbeitung des Themas herzlich danken.

Bei Frau Dr. S. Pawlas bedanke ich mich für die jederzeit gewährte wissenschaftliche Betreuung und die großzügige Unterstützung während der Fertigstellung dieser Arbeit.

Ferner gilt mein Dank allen Mitarbeitern des Instituts, die mich bei dieser Arbeit unterstützten. Besonders danken möchte ich Frl. Gaby Reggel für die stets gewährte Hilfe.

LEBENS LAUF

Name:	Evelin Cornelia Pfleger
Eltern:	Hermann Pfleger Helga Pfleger, geb. Wohlfahrt,
1953	13. Mai geboren in Weilheim/Obb.,
1959 - 1965	Grundschule Weilheim
1965 - 1969	Realschule Weilheim
1969 - 1974	Neusprachliches Gymnasium Schloß Hohenburg, Lenggries
1974	Abitur
1974 - 1976	Studium der Forstwissenschaften an der Ludwig-Maximilians-Universität München
1977 - 1978	Empfangssekretärin im Hotel Kent München
1978 - 1984	Studium der Tiermedizin an der Ludwig- Maximilians-Universität München
27. Juli 1984	Erhalt der Approbation
seit Okt. 1984	Promotionsstudium am Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät München

